

Untersuchungen über die cytogenetische Wirkung von wasserlöslichen
Röntgenkontrastmitteln

INAUGURAL-DISSERTATION
ZUR
ERLANGUNG DER DOKTORWURDE
DER
HOHEN NATURWISSENSCHAFTLICHEN FAKULTÄT
DER
LUDWIG-MAXIMILIANS-UNIVERSITÄT
MÜNCHEN

vorgelegt

von

Manfred Bauchinger

München

1964

eingereicht: November 1963

Anreger der Arbeit

und 1. Berichterstatter: Professor Dr. A. Barthelmeß

2. Berichterstatter: Professor Dr. L. Brauner

Tag der mündlichen Prüfung 22. 1. 1964



Aus dem Botanischen Institut der Universität München
(Direktor: Prof. Dr. L. BRAUNER)

UNTERSUCHUNGEN ÜBER DIE CYTOGENETISCHE WIRKUNG
VON WASSERLÖSLICHEN RÖNTGENKONTRASTMITTELN*

Von

MANFRED BAUCHINGER**

Mit 11 Textabbildungen

(Eingegangen am 10. Februar 1964)

* Dissertation der Naturwissenschaftlichen Fakultät der Ludwig-Maximilians-Universität München (Januar 1964).

** Herrn Prof. Dr. A. BARTHELMSS möchte ich für die Themenstellung und stete Betreuung aufrichtig danken.



Einführung und Problemstellung

In die Reihe der zahlreichen Chemikalien, die dem menschlichen Körper bei den verschiedensten Gelegenheiten zugeführt werden (BARTHELMESS 1956, 1959, 1961), gehören auch die Kontrastmittel (KM) der Röntgendiagnose.

Um eine schädliche Nebenwirkung so weit wie möglich auszuschließen, werden auch die KM umfangreichen Untersuchungen unterworfen (DORN 1957; FOCHER 1957; HASSE, LINKER, DEMBOWSKI u. REES 1956; LANGECKER, HARWART u. JUNKMANN 1953; PONTIFIX 1959; SCHÜSSLER 1962). Sie sollten nach DORN (1957) folgenden Anforderungen genügen: „Optimale Röntgenstrahlenabsorption, sehr geringe allgemeine und lokale Toxizität, sehr gute Wasserlöslichkeit bei intravenöser Anwendung, große Stabilität gegen chemischen Abbau im Körper und bei indirekter Anwendung eine organspezifische, allgemein aber eine schnelle und vollständige Ausscheidung.“

Die Prüfung auf unerwünschte oder gefährliche Nebenwirkungen bezieht sich also offensichtlich nur auf allgemeine und lokale „Toxizität“. Es findet sich jedoch nirgends ein Hinweis, daß bei solchen pharmakologischen Prüfungen auch auf eine etwaige schädliche *cytologische* und *genetische* Nebenwirkung geachtet wurde. Eine solche Forderung erscheint gerade bei KM aus zwei Gründen besonders gerechtfertigt: 1. Werden sie stets in Verbindung mit Röntgenbestrahlung angewendet und absorbieren diese Strahlen stark. 2. Können einige von ihnen leicht direkt die Keimdrüsen und Keimzellen erreichen. Dies geschieht vor allem bei der Hysterosalpingographie, die unter anderem bei der Sterilitätsuntersuchung und Sterilitätsbehandlung vorgenommen wird, sowie bei der KM-Füllung des Samenleiters, der Samenblasen und Nebenhoden beim Mann (BRÜCKNER 1957). Aber auch die in der Urographie, Angiographie und Venographie verwendeten KM könnten unter Umständen über die Blutbahn die Zellen der Keimbahn erreichen. Wenn auch von einer raschen „Resorption“¹ und Ausscheidung der wasserlöslichen KM (DORN 1957, ERBSLÖH 1954) sowie von ungestörtem Schwangerschaftsverlauf nach Hysterosalpingographie bei Frühgravidität berichtet wird (HELLINGER 1958, MUTH 1962), so schließt dies doch die Möglichkeit nicht aus,

¹ „Resorption“ nach H. VOLKMAN (Med. Terminologie 1947) = der Übergang in Blut und Lymphe.

daß KM am idioplasmatischen Material unter bestimmten Bedingungen dysgenische Veränderungen hervorrufen können.

Aufgabe der vorliegenden Arbeit ist es, diese Möglichkeit an einem in der Cytologie erprobten Test zu untersuchen. Es wurde zunächst der „Allium-Test“ gewählt, da er folgende günstige Voraussetzungen bietet: 1. Er ist leicht, rasch und billig durchzuführen. 2. Die Wurzeln sind relativ einfach gebaute Organe, die schon wegen ihrer normalen Funktion ein gutes Aufnahmevermögen für wasserlösliche Stoffe haben und während des Versuchs nicht (wie vielfach Zellkulturen) in „ungewohntem“ Milieu sind. 3. Das Spitzenmeristem junger rasch wachsender Wurzeln enthält viele Hundert Mitosen in allen Stadien, und die Zellen und Chromosomen sind relativ groß, so daß mit Hilfe der Feulgentechnik Änderungen an Zahl, Größe und Verteilung der Chromosomen leicht zu erkennen sind.

Material und Methode

Zwiebeln von *Allium cepa* (Sorte Zittauer Gelbe, Parma, sowie polnische Zwiebeln unbekannter Rasse) wurden so auf Gläser mit Mairollösung (1 g/l Leitungswasser) gesetzt, daß nur die austreibenden Wurzeln mit dem Wasser in Berührung kamen. Bei einer Wurzellänge von 2–4 cm wurde das Wasser für 4 bzw. 24 Std durch die Agenslösung ersetzt. Um Mangelerscheinungen während der Behandlung auszuschließen, wurden diese mit derselben Mairollösung hergestellt. Nach Feststellung der Letaldosis für eine 24stündige Behandlung (Wurzeln nach dieser Zeit nicht mehr erholungsfähig) wurden geometrische Verdünnungsreihen (Faktor 0,5) hergestellt und jeweils 3 Zwiebeln in 5 verschiedenen Konzentrationsstufen getestet. Nach der Behandlung wurden die Zwiebeln wieder in frische Nährlösung gebracht und nach den entsprechenden Erholungszeiten die intakten Wurzeln abgenommen. Gleichlaufend erfolgte ein Vitalitätstest durch Beobachtung des Wurzelwachstums, um festzustellen, daß nur Versuche ausgewertet wurden, die nicht zu einer letalen Schädigung der Wurzeln führten. Auch wurde auf Behandlungszeiten über 24 Std verzichtet, da in solchen Versuchen vielfach die Spezifität der Agenswirkung durch unspezifische Folgen der chronischen Stoffwechselstörungen zunehmend verschleiert wird.

Fixierung erfolgte in Carnoy, Färbung in toto nach FEULGEN, Untersuchung in Quetschpräparaten, nach Einschluß in Caedax. Die Quetschpräparate wurden sehr vorsichtig hergestellt, um die ursprüngliche Lagerung der Chromosomen zu erhalten. Es wurden nur Präparate ausgewertet, die einwandfrei gequetscht waren.

Ausgezählt wurden in Kontrollen und Versuchsreihen pro Zwiebel 50 Gesichtsfelder einer Wurzelspitze mit gut auswertbaren Anaphasen (bei Joduron) bzw. Ana- oder Metaphasen (bei allen anderen Stoffen). Ferner wurde eine zweite Wurzel übersichtsmäßig geprüft, um etwaige Abweichungen in der Reaktion erfassen zu können.

Im Verlauf der Untersuchungen zeigte sich, daß trotz des gleichartigen Materials (für eine abgeschlossene Versuchsreihe wurden nur Zwiebeln der gleichen Sorte und Ernte verwendet) manchmal erhebliche quantitative Unterschiede in der Reaktion auf die angebotenen Agenslösungen, sowohl zwischen den verschiedenen Zwiebeln als auch zwischen den einzelnen Wurzeln der gleichen Zwiebel auftraten. Um miteinander sinnvoll vergleichbare Reihen zu erhalten, ist es sehr wichtig, die Versuche in einem möglichst kurzen Zeitraum (etwa 3 bis 4 Wochen) durchzuführen, da sich die Empfindlichkeit der Zwiebel gegenüber den eindringenden Stoffen quantitativ ändert. So konnte z. B. von Oktober bis April eine Erniedrigung der Empfindlichkeit bis um die Hälfte festgestellt werden. Die angegebenen wirksamen Konzentrationen können daher nur Relativwerte darstellen.

Es ist weiterhin notwendig, Zwiebeln aus frischer Ernte zu verwenden, da bei längerer Lagerung eine wohl durch das Altern der Zwiebeln bedingte höhere spontane Mutationsrate auftritt. In einjährigem Material wurden von mir in 9 Kontrollwurzeln 17 Fragmente gefunden.

Geprüft wurden folgende Stoffe (Abb. 1):

1. Joduron; dazu als Teilstoffe a) 3,5 Dijodpyridon-4-N-Essigsäure, b) Diäthanolamin.
2. Endografin.
3. Triopac.
4. Vesamin.

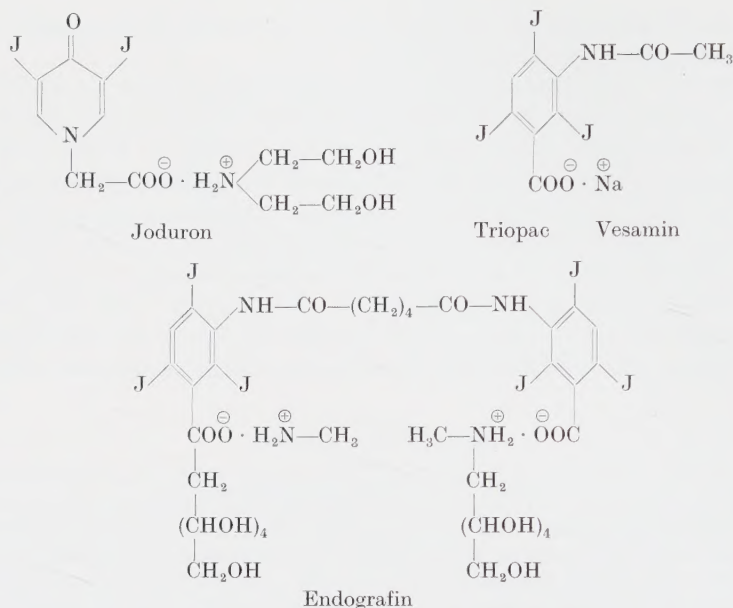


Abb. 1. Formeln der untersuchten Kontrastmittel

Versuchsergebnisse

1. Joduron. Joduron 70% stellt eine 70%ige (Gewicht/Vol.) Lösung von Diodonum in Wasser dar, die zur pH-Einstellung eine sehr geringe zusätzliche Menge Diäthanolamin enthält. Diodonum ist das Salz der 3,5-Dijodpyridon-4-N-Essigsäure mit Diäthanolamin.

Eine 5–6%ige Joduronlösung wirkte letal. Die höchste Konzentration der Verdünnungsreihe wurde bei 3% (0,059 molar) angesetzt, die geringste betrug 0,188% (0,0037 molar).

Die Ergebnisse zeigt Tabelle 1. Von den 3 auffallendsten Wirkungen des Agens sei zunächst die *Verklebung* („stickiness“) der Chromosomen genannt, die besonders in den höheren Konzentrationen hervortritt. In den leichteren Fällen zeigt sie sich nur an den Enden der Chromosomen (Abb. 2b, e, m), bei stärkerer Ausprägung verkleben mehrere Chromosomen der Länge nach in Gruppen (Abb. 2c), im Extremfall verklumpt der ganze Chromosomensatz zu einer pyknotischen Gruppe (Abb. 2d). Viele dieser Mitosen gleichen denen, die nach Trypaflavin-Behandlung (BAUCH 1948, MEYER 1958) auftreten (Abb. 2e, l, m). Wenn diese Verklebung vor Beginn der mitotischen Bewegungen eintritt, wird entweder eine saubere Einordnung in die Metaphaseplatte nicht mehr erreicht (Abb. 2b, c), oder die Chromosomen-Enden haften in den Anaphasen lange Zeit aneinander und werden zu Brücken auseinandergezerrt (Abb. 2e, l, m), den schon vielfach beschriebenen „Pseudoamitosen“ (DEUFEL 1951, MARQUARDT 1949, 1950). Dabei werden oft Stücke der Chromosomenarme abgerissen (Abb. 2k, l, m?); diese kleben jedoch manchmal an den Brücken fest und erfahren schließlich eine telophaseähnliche Umbildung (Abb. 2l). Freie Fragmente wurden bei Vorliegen von ausgeprägter stickiness nicht gefunden. Sind nur einige Chromosomen verklebt, so bleiben diese oft als pyknotischer Klumpen im Äquator zurück, und die anaphasische Trennung gelingt nur den freien Chromosomen (Abb. 2g).

Tabelle 1. Statistik der normalen und abnormen Meta- und Anaphasen in verschiedenen Konzentrationsstufen von Joduron

Konzentration/ Behandlung/ Erholung	Normale Mitosen	Gestörte Mitosen (%)	Ver- teilungs- störungen	Chromo- somen- defekte	Klein- kerne	Konzentration/ Behandlung/ Erholung	Normale Mitosen	Gestörte Mitosen (%)	Ver- teilungs- störungen	Chromo- somen- defekte	Klein- kerne
3%/4/0	—	100	81	—	16	0,75/24/48	130	1,5	2	—	3
	—	100	135	—	2		76	2,6	1	1	1
	—	100	86	—	2		90	1,1	1	—	30
3/24/0	8	90,5	75	1	32	0,75/24/72	118	5,6	6	1	9
	9	81,4	37	2	13		96	5,9	6	—	5
	16	68,6	35	—	7		82	1,2	1	—	10
3/24/24	126	13,1	19	—	6	0,38/4/0	148	1,3	2	—	2
	126	5,3	6	1	14		19	85,6	112	1	5
	125	6,7	8	1	7		141	0,7	1	—	—
3/24/48	104	18,8	24	—	264	0,38/24/0	97	12,7	13	1	—
	70	15,7	12	1	327		100	3,8	4	—	3
	131	12,1	17	1	230		106	6,2	7	—	1
3/24/72	17	32,0	8	—	218	0,38/24/24	72	7,7	6	—	—
	13	31,6	6	—	242		116	4,1	4	1	10
	102	1,9	2	—	1		83	4,6	3	1	2
1,5/4/0	15	89,1	123	—	8	0,38/24/48	81	6,9	6	—	—
	6	94,8	107	1	7		98	2,0	2	—	1
	14	88,8	111	—	7		85	12,4	12	—	1
1,5/24/0	73	40,7	49	1	179	0,38/24/72	86	5,5	5	—	2
	72	34,6	37	1	55		111	4,3	5	—	—
	100	48,4	90	4	22		116	3,7	3	1	—
1,5/24/24	105	7,9	9	—	169	0,19/4/0	104	12,6	15	—	6
	100	4,8	5	—	11		57	23,0	17	—	3
	123	3,2	4	—	6		94	14,1	17	—	1
1,5/24/48	105	12,5	15	—	193	0,19/24/0	102	6,4	6	1	—
	123	4,7	6	—	47		75	2,6	2	—	1
	109	6,8	7	1	15		95	2,1	2	—	1
1,5/24/72	109	9,9	9	3	161	0,19/24/24	94	—	—	—	—
	116	6,5	7	1	54		111	3,5	3	1	1
	109	2,7	2	1	5		76	6,2	5	—	1
0,75/4/0	100	3,8	4	—	2	0,19/24/48	85	3,4	3	—	—
	42	26,3	15	—	1		91	8,1	7	1	—
	72	4,0	2	1	4		94	16,1	17	1	2
0,75/24/0	111	14,6	18	1	5	0,19/24/72	108	10,7	13	—	—
	91	20,8	20	4	12		77	9,4	7	1	2
	103	22,3	29	1	19		71	13,4	11	—	—
0,75/24/24	118	0,8	1	—	—	Kontrollen	1798	0,9	16	—	10
	71	4,1	3	—	44						
	120	1,6	2	—	2						

Bei den unregelmäßig geformten Kernen mit Einbuchtungen und „Protuberanzen“ dürfte es sich wohl um Ruhekernelstitutionen aus derart gestörten Meta- und Anaphasen handeln.

Gelegentlich finden sich überalterte, jedoch sonst ungestörte Mitosen, bei denen die Chromosomen breit und verschwommen (Abb. 4i) oder stark strukturiert erscheinen. Metaphasen bilden dann in der Folge wohl einen tetraploiden Restitutionskern aus.

In erster Linie wirkt Joduron jedoch auf den *Bewegungsapparat der Mitose* ein. Die stathmokineticen Störungen (Abb. 3) zeigen in sämtlichen Konzentrationen die gleichen typischen Ausprägungsformen, nur ihre Häufigkeit ist je nach

der Konzentrationsstufe, dem physiologischen Zustand der einzelnen Zellen oder des ganzen Gewebes verschieden. Besonders auffallend war, daß nach 24stündiger Behandlung der Zwiebeln in den beiden höchsten Konzentrationen die Gesamt-



Abb. 2a—v. Wirkung von Joduron auf die Mitose in Zwiebelwurzeln. a—m Stickiness; i inäquale Verteilung; n—p non-congression; q—s non-disjunction; t—u Merokinese; v apolare Stathmokinese (Anaphase). a, f, h, o—u 1,5%/24/0; b, g 3%/24/0; c, d, e 3%/4/0; l 1,5%/4/0; i 3%/7/0; k 0,75%/24/0; n 3%/5/0; v 3%/24/48; m 3%/24/0

störungen geringer waren als nach 4stündiger Behandlung. Dieser merkwürdige Dosis-Effekt wurde auch von KECK und HOFFMANN-OSTENHOF 1956 bei Einwirkung von Gewebeextrakten von *Allium cepa* beobachtet. Als schwächste Störungsform der prometaphasischen Bewegungen tritt häufig eine unsaubere Einordnung in die Äquatorialebene auf. Deutlicher wird der Charakter der Störung bei jenen Metaphasen, in denen nur *einzelne Chromosomen nicht an der Einordnung teilnehmen* und mehr oder weniger weit polwärts liegen bleiben („non-congression“, Abb. 2n—p). Bleiben mehrere Chromosomen zurück, so findet man sie selten alle auf der gleichen Seite. Führt die Hauptgruppe die Anaphase durch, so können solche ausgeschlossenen Chromosomen ihre Lage offenbar beibehalten (Abb. 2q). Die Centromere ihrer Chromatiden teilen sich oft lange nicht; häufig spreizen später die Chromatiden bis zu Kreuzform (Abb. 3e, g, i). Wenn sie sich schließlich doch noch trennen, dann parallel und somit offenbar passiv.

Nach Lebendbeobachtungen von CARLSON (1956), BAJER und MOLÉ-BAJER (1956) soll die Anaphasebewegung überhaupt erst beginnen, wenn alle Chromosomen im Spindeläquator versammelt sind. Mit dieser Auffassung lassen sich Mitosen wie in Abb. 2r schwerlich in Übereinstimmung bringen; doch haben die genannten Autoren normale, nicht absichtlich chemisch gestörte Mitoseabläufe untersucht. Auch LETTRÉ (1956, 1957) und SIEBS (1960) beobachteten Mitosen in vivo und sahen, daß die in der Prophase nur wenig nachhinkenden Chromosomen meist noch Anschluß an die Hauptgruppe finden, wenn diese mit der Anaphase beginnt, und daß dies nur den extrem verzögerten Chromosomen nicht mehr gelingt. Wenn es sich jedoch um eine nur zufällig verlangsamte, aber sonst normale Bewegung handeln würde, müßten diese Nachzügler später bei ihrer eigenen anaphasischen Trennung die Chromatiden in normal gewinkelter Gegenüberstellung zeigen. Das ist jedoch in den hier geschilderten Versuchen fast nie der Fall; sie trennen sich vielmehr so, als ob weder Schub noch Zug an den Tochter-Centromeren ansetzen würde.

Die stärkste Störungsform besteht in *Ausfall der Spindelbildung* oder *totaler Inaktivierung* oder *Zerstörung der schon gebildeten Spindel*. Es erscheinen dann die typischen Bilder der *apolaren Stathmokinese* (Abb. 3a, b, e—i). Vielfach sind die Chromosomen metaphasisch stark verkürzt; Spreizen der Chromatiden wie nach Colchicin-Einwirkung findet sich nur in Ausnahmefällen (Abb. 3e, g, i).

Sowohl in den stathmokineticischen Meta- wie in den Anaphasen sind die Chromosomen oft nicht gleichmäßig verteilt, sondern bilden einige lockere Gruppen. Wenn sie dann auch noch am Centromer gewinkelt sind, täuschen sie oft Merokinesen vor (BARTHELMESS 1957; BARTHELMESS u. EINLECHNER 1959; BARTHELMESS u. ELKABARITY 1962) (Abb. 2v). Echter *merokinetischer, d. h. multipolarer* Mitose-Verlauf findet sich jedoch nur selten und nur in Ana- oder Telo-phase (Abb. 2t, u, 3e rechts oben); auch herrscht dieser Störungstyp keineswegs in niederen Konzentrationen vor, wie nach der Annahme von ÖSTERGREN (1944), es handle sich nur um die schwache Ausprägung der Stathmokinese, zu erwarten wäre.

Einige Wurzeln zeigen übrigens auch deutliche *präprophasische Mitosehemmung*. Die wenigen vorhandenen Metaphasen haben dann stets starke Mitosestörung.

Es ist sehr wahrscheinlich, daß die Stathmokinesen je nach der Chromosomenzerstreuung entweder mit der Bildung von *tetraploiden Restitutionskernen* oder 1 *heteroploiden Hauptkern* mit mehreren *Kleinkernen* enden. Polyploide (wahrscheinlich 4n) Metaphasen konnten selten beobachtet werden. Kleinkerne jedoch,

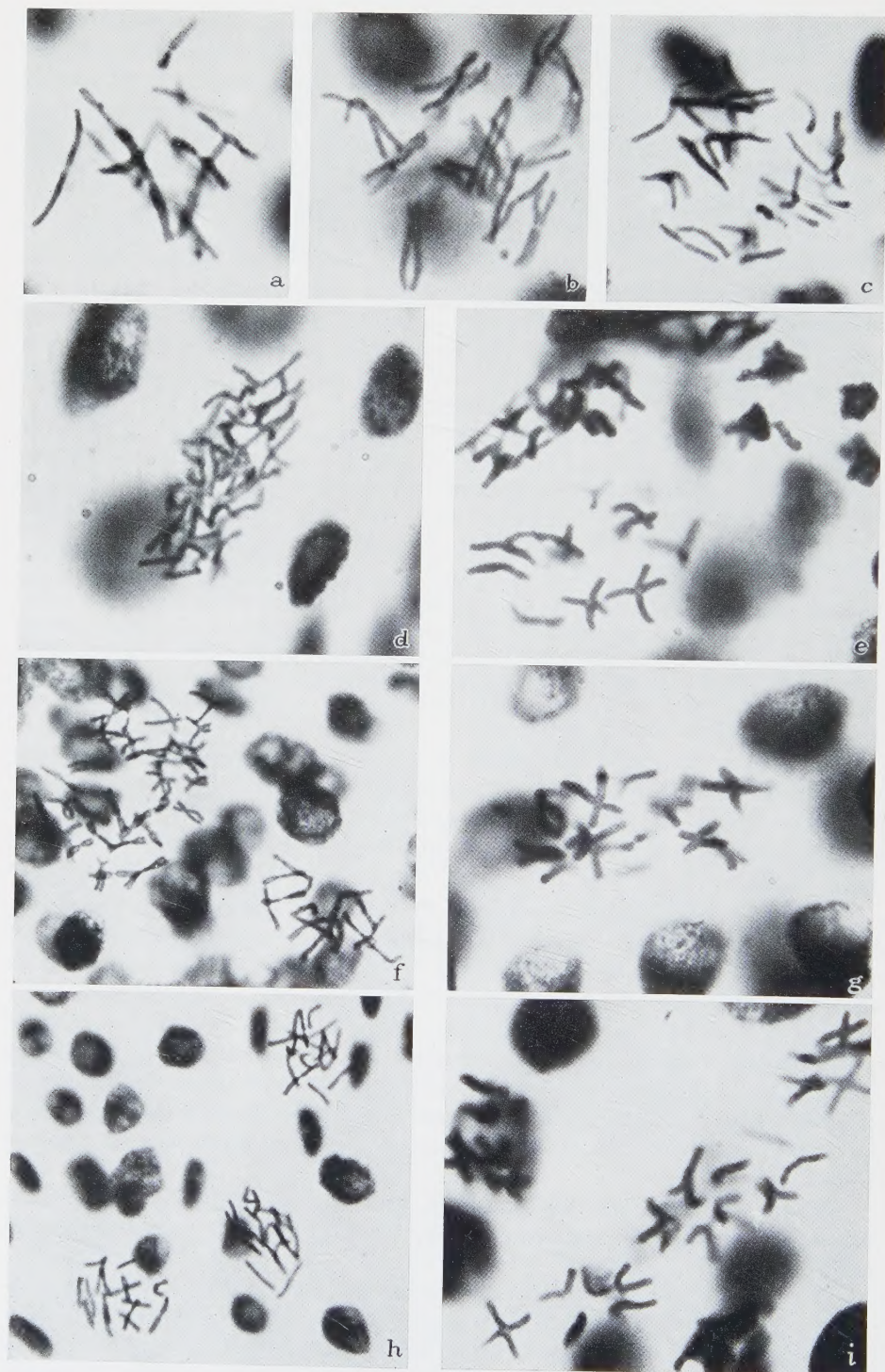


Abb. 3a—i. Wirkung von Joduron. a—i Stathmokinese. a, b 1,5%/4/0; c 1,5/24/0; d 0,19/24/48; e 5/24/0, f 3/5/0; g, i 1,5/24/0; h 3/4/0;

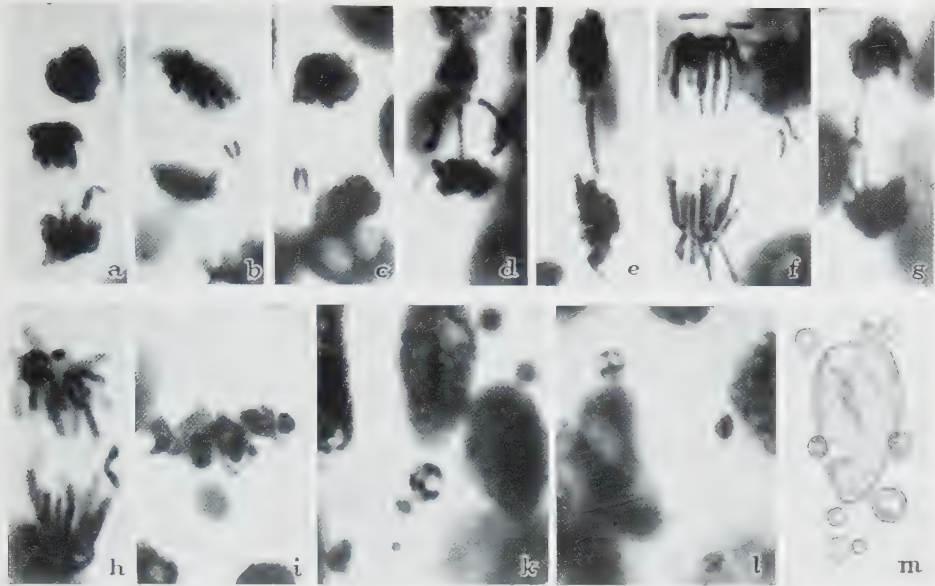


Abb. 4a—m. Wirkung von Joduron: a—h Strukturmutationen; i Restitutionskern; k—m Kleinkerne. 1,5 %/24/0; b—c 0,75/24/0; f 0,75/24/72; g 0,188/24/0; h 0,188/24/24; i 1,5/24/24; k 0,75/24/48; l 1,5/24/72; m 3/24/48

die offenbar aus kleinen Chromosomengruppen oder einzelnen Chromosomen entstanden sind, treten in sehr großer Zahl 48—72 Std nach Behandlung in den beiden höchsten Konzentrationen auf (Abb. 4k—m). Daneben finden sich kleinere, homogene, stark feulgenfärbbare Tröpfchen.

In den Erholungszeiten gehen die Spindelstörungen deutlich zurück (Tabelle 1), finden sich jedoch auch noch nach 48—72 Std Erholung. Meist äußern sie sich dann aber bei den Metaphasen nur mehr in einer unsauberen Einordnung in die Platte, bei den Anaphasen als Schrägstellung der Spindel. Die Tatsache, daß viele Anaphasen unmittelbar bei beginnender Chromatidentrennung fixiert wurden, läßt auf ein verlangsamtes Einsetzen dieser Bewegung schließen.

Außer der starken Störung des mitotischen Bewegungsapparats bewirkt Joduron in schwächerem Maß auch *Strukturschäden an Chromosomen* (Abb. 4a bis h). In sämtlichen Konzentrationen fanden sich nach 24stündiger Behandlung freie *Fragmente* sowohl von Chromatiden wie von Chromosomen sowie *Anaphasebrücken* als Folge von Chromosomenbrüchen („Isolocus breaks“), Wiedervereinigung der Schwesterchromatiden an der Bruchstelle („sister reunion“) und Translokationen („asymmetrical interchange“). Eine statistische Erfassung aller ausgelösten Struktureffekte ist allerdings hier aus mehreren Gründen bei weitem nicht so vollständig möglich wie z. B. nach Bestrahlungsversuchen.

Nach Behandlungen, die starke Stickiness erzeugen, sind freie Fragmente selten zu beobachten, da die meisten wahrscheinlich an der Bruchstelle verklebt bleiben oder in der dichten Chromosomengruppe nicht aufzufinden sind. Echte Strukturbrücken in den Anaphasen können dann oft nicht sicher von Verklebungsbrücken unterschieden werden. Außerdem sind wegen der je nach Dosis mehr oder weniger starken stathmokinischen Wirkung bipolare Ana- und Telophasen ohnehin seltener oder fehlen ganz; in apolaren Anaphasen sind aber irreguläre Chromatid-Verknüpfungen meist schwer feststellbar. Die in Tabelle 1 mitgeteilten Zahlen können daher nicht im Sinne einer Dosis-Effekt-Relation sinnvoll verglichen

werden. *Völlig eindeutig ist nur die Erhöhung der Zahl von Struktureffekten gegenüber den Kontrollen.*

Bei der Auswertung dieser Versuche zeigte sich eine *hohe quantitative Variabilität* (Tabelle 1), wie sie bisher bei Anwendung des Allium-Tests kaum beschrieben wird. (BAUCH 1948 beobachtete nach Trypaflavinbehandlung in schwachen Lösungen neben gestörten völlig ungeschädigte Wurzeln.) Sie tritt bei sämtlichen untersuchten Stoffen in gleicher Weise auf. Da diese Erscheinung die Frage der Rückschluß-Berechtigung berührt, erschien eine Klärung der Ursachen notwendig.

Untersuchungen zur Klärung der hohen quantitativen Variabilität

Um zu überprüfen, wie rasch der Stoff in die Zelle einzudringen vermag und dort seine Wirkung entfalten kann, wurden 3 Zwiebeln (= I, II, III) mit einer 3%igen Joduronlösung behandelt und die in Abständen von 1 Std abgenommenen Wurzeln auf Mitosestörungen untersucht. Vor Versuchsbeginn wurden Kontrollwurzeln fixiert.

Nach 1- und 2ständiger Behandlung zeigten sich keine Mitosestörungen. Ab 2 Std sind jedoch viele Metaphasen mit langausgezogenen Chromosomenarmen vorhanden. Viele Anaphasen wurden unmittelbar nach Beginn des normalen Bewegungsablaufes fixiert (ein Stadium, das sonst sehr rasch durchlaufen und deshalb selten fixiert wird). Die gleichen Bilder tauchen auch in den wenig gestörten Wurzeln nach 3-, 4- und 8ständiger Behandlung auf. Es scheint, daß das eingedrungene Joduron zuerst eine Änderung der Plasmaviskosität hervorruft, die zu einer Verlangsamung der Bewegungsabläufe führt. Nach 3 Std traten bei I und III leichte Spindeldefekte auf, wie Schrägstellung oder unsaubere Einordnung in die Metaphaseplatte. Nach 4 Std waren bei I alle Metaphasen stathmokinetic gestört, bei III nur 74%. In II wurde eine Totalstörung erst nach 6 Std erreicht.

Die Auswertung ergab ferner, daß auch nicht alle Wurzeln einer Zwiebel gleichmäßig beeinflußt werden. Wenn auch qualitativ die gleichen Störungen (mit nur geringen Abwandlungen) auftreten, so zeigen sich in ihrer statistischen Verteilung doch große Unterschiede.

Wenn infolge dieser großen Unterschiede sowohl in der interindividuellen als auch intra-individuellen Variabilität Differenzen von mehr als 90% auftreten können, so zeigt dies schon, wie gering die Chance ist, bei 6 untersuchten Wurzeln von 3 Zwiebeln eine zahlenmäßig etwa gleichstarke Reaktion zu bekommen. Versuchsreihen mit dem Ziel einer *quantitativen* Erfassung der Dosis-Effekt-Relation müßten daher erheblich umfangreicher sein.

Nach den erwähnten Ergebnissen wäre denkbar, daß gerade bei Kurzzeitbehandlung Unterschiede in der Permeabilität der einzelnen Wurzeln sich besonders stark in Richtung einer Erhöhung der Variabilität auswirken. Weiter könnte eine hohe Konzentration des Agens bereits in einzelnen Wurzeln zu Fixierungseffekten führen, d. h. es könnten normale Mitosen in ihrem ursprünglichen Zustand erhalten bleiben. Beides würde das Auftreten von Wurzeln mit nur wenigen Effekten erklären.

Um diese Überlegungen zu prüfen, wurde ein weiterer Versuch durchgeführt, in dem mit einer um die Hälfte erniedrigten Konzentration (1,5%) eine 24stündige Behandlung vorgenommen wurde. Gleichzeitig wurde die Individuenzahl erhöht und von 5 verschiedenen Zwiebeln je 5 Wurzeln untersucht.

Die Ergebnisse zeigten, daß im „Langzeit-Versuch“ die gleiche Variabilität auftrat. Ebenso brachte eine Erhöhung der Individuenzahl keine Verbesserung der Zahlenwerte.

Die scheinbar etwas zu knappe Behandlungszeit (4 Std) in den Hauptversuchen und die geringe Zahl ausgewerteter Wurzeln können also wohl kaum die allein ausschlaggebenden Gründe für die hohe quantitative Variabilität der Effekte sein. Es blieb daher noch eine weitere naheliegende Vermutung zu prüfen. Da Joduron in wäßriger Lösung dissoziiert ist, könnten Anion und Kation getrennt und in verschiedener Menge aufgenommen werden und in den Zellen in verschiedener Weise zur Wirkung kommen. Auch wäre denkbar, daß durch enzymatische Prozesse sowohl Anion wie Kation weiter ab- oder umgebaut werden. Deshalb wurden noch 2 *Teilstoffe* des Jodurons getrennt auf ihre cytogetische Wirkung untersucht, nämlich 3,5-Dijodpyridon-4-N-Essigsäure und Diäthanolamin.

a) *3,5-Dijodpyridon-4-N-Essigsäure (DJPE)*. Da die Säure in Wasser schwer löslich ist, wurde mit NaHCO_3 eine neutrale Lösung hergestellt.

Die Letaldosis für eine 24stündige Behandlung liegt etwa bei 3%. Es wurde eine Verdünnungsreihe von 1,5–0,094%, entsprechend 0,037–0,0023 molar untersucht (bezogen auf die reine Säure). Die Befunde sind in Tabelle 2 zusammengefaßt.

Tabelle 2. *Statistik der abnormen Meta- und Anaphasen (Gesamtstörungen aus Spindel-, Struktur- und unspezifischen Effekten) nach Einwirkung von Dijodpyridonessigsäure*

Konzentration	4 Std.-Behandlung		24 Std.-Behandlung		24 Std.-Erholung		48 Std.-Erholung		72 Std.-Erholung	
	Meta.	Ana.	Meta.	Ana.	Meta.	Ana.	Meta.	Ana.	Meta.	Ana.
1,5% = 0,037 m	21,2	14,3	87,1	100	4,4	7,1	9,5	—	9,1	—
	15,4	11,5	100	100	54,3	54,6	14,0	9,7	21,2	8,7
	3,2	12,0	82,8	100	4,1	2,5	10,9	—	1,9	4,2
0,75% = 0,018 m	28,0	18,4	100	100	2,5	5,0	22,8	—	23,8	16,7
	29,2	42,9	33,3	6,9	12,5	3,1	9,1	3,6	3,8	6,1
	22,9	14,8	16,7	—	3,7	—	14,0	—	8,9	4,0
0,38% = 0,009 m	18,8	3,7	39,6	10,0	22,2	15,8	33,3	30,8	4,5	6,2
	21,4	—	24,6	3,8	24,2	6,4	21,9	—	4,5	4,3
	37,0	—	17,5	3,9	7,3	4,3	20,4	—	—	—
0,19% = 0,005 m	34,9	6,2	25,0	—	1,8	2,7	—	—	—	—
	27,3	6,2	40,0	11,1	15,6	6,7	20,9	5,3	—	—
	15,0	—	9,5	8,3	15,2	—	4,2	—	—	—
0,09% = 0,002 m	—	—	13,0	—	1,9	—	2,6	—	2,0	—
	—	—	2,8	—	4,3	4,8	6,1	6,2	—	3,8
	2,4	4,3	19,4	—	11,1	—	5,3	—	2,3	5,9

Gesamtkontrollen: Normale Metaphasen 661; gestört 12 = 1,8%

Normale Anaphasen 393; gestört — —

Werte der Tabelle in %.

Schon eine nur 4stündige Behandlung mit einer 3%igen Lösung ergab eine totale Mitosestörung, doch wurde der *stathmokinetic* Effekt vielfach durch starke Stickiness und Verklumpung überdeckt (Abb. 5a—d). Auffällig waren die auch von BARTHELMESS 1957, BARTHELMESS u. EINLECHNER 1959 z. B. für Äthyläther beschriebenen Ringbildungen von Metaphasechromosomen, die durch Endverklebung entstehen (Abb. 5a). Da aber im vorliegenden Fall wegen der starken Stickiness kaum eine freie Bewegung der Chromosomen zustande kommt, könnte es sich auch um Prometaphasen handeln, die durch Verklebung verzerrt wurden. Daneben kommt es zur Ausbildung von Karyomeren und pyknotischen Kernen. Sticky-Effekte kommen in allen Konzentrationen selbst in den Erholungsphasen vor.

In sämtlichen Konzentrationsstufen sind überalterte Mitosen häufig (Abb. 5u. v). Davon sind nicht nur solche mit Spindelstörungen betroffen, sondern auch eine große Zahl, bei denen sich die Chromosomen in geordneter Lage befinden. Dieser Störungstyp tritt hauptsächlich auch in den Erholungszeiten auf.

Starke stathmokinetic Störungen finden sich besonders in den beiden höchsten Konzentrationen nach 24stündiger Behandlung (Abb. 5i. l). Bei einer Zwiebel traten wieder die gleichen Metaphasebilder mit bis zu Kreuzform spreizenden Chromosomen auf, wie sie bereits bei Joduron als Ausnahmefall geschildert

wurden. Jedoch sind hier höchstens 1—3 Chromosomen betroffen (Abb. 5r). Non-congression zeigt sich in verschiedener Form und Intensität (Abb. 5e, f, k, r). In der Anaphase erreichen oft mehrere Chromatiden die Pole nicht, oder es bleiben ganze Chromosomen frei liegen (Abb. 5g, h). Kleinkerne (Abb. 5t) und Tropfen

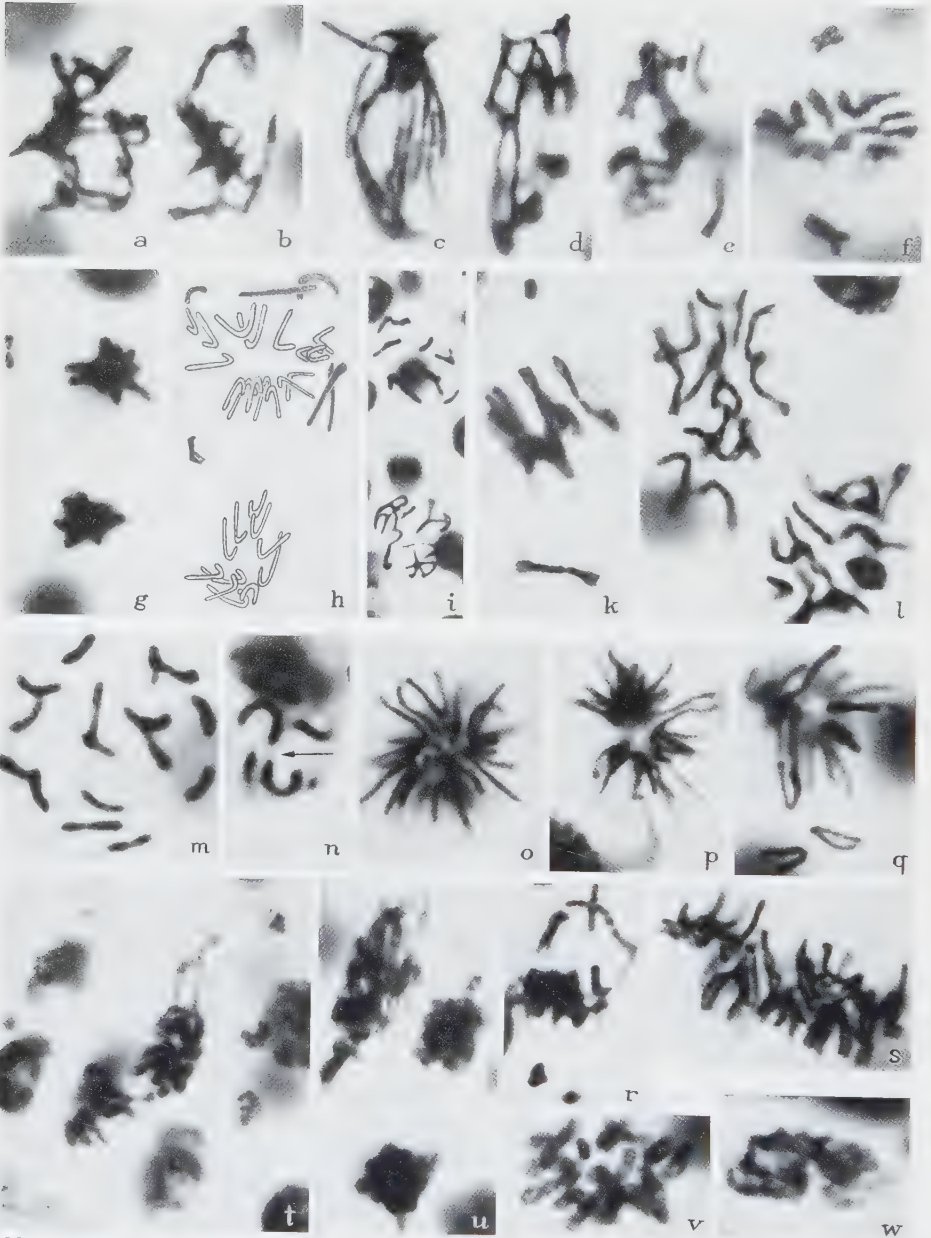


Abb. 5a—w. Wirkung von DJPE. a—d Stickiness; e, f, k non-congression; g non-disgression; h—n, r Stathmokinase (h links oben 2 Fragmente); o—q Star-Metaphasen; s tetraploide Metaphase; t Kleinkerne und Restitutionskern; u, v Überalterungen; w 4n-Restitutionskern. (k der Punkt oben im Bild ist ein Chromosom.) a, c, d, k 3%/4/0; b, e—h, r 1,5/24/0; i, l—n, q 0,75/24/0; o, p 0,75/4/0; t 1,5/24/24; s 1,5/24/48; u 0,3/24/48; v 0,09/24/0; w 0,3/24/24

waren in den Erholungsphasen nur sehr wenige vorhanden. Die höheren Häufigkeitswerte stammen alle aus einer Zwiebel. Extrem hohe Zahlen wie bei Joduron werden aber bei weitem nicht erreicht. Polyploide Mitosen konnten insgesamt nur 6 beobachtet werden (Abb. 5s = 4n Metaphase).

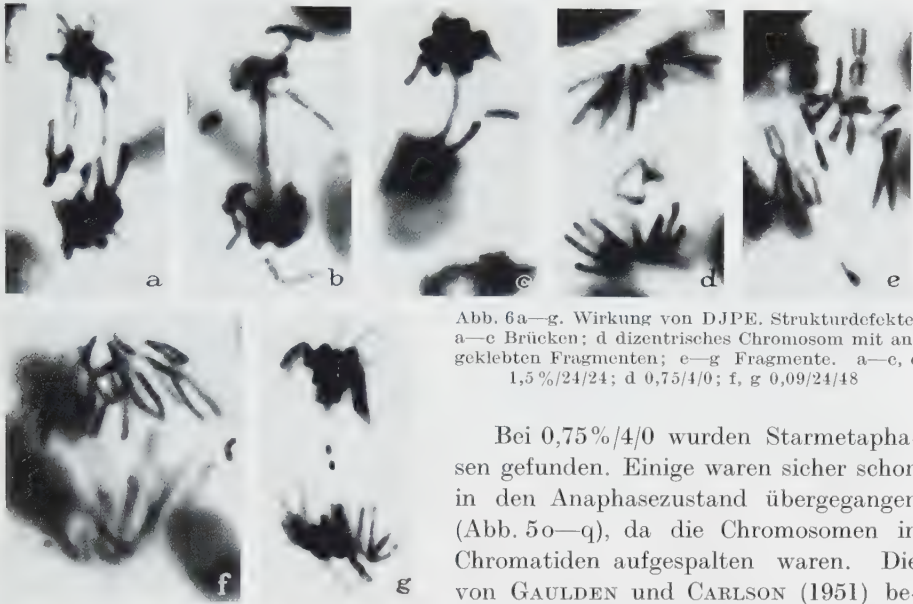


Abb. 6a—g. Wirkung von DJPE. Strukturddefekte. a—c Brücken; d dizentrisches Chromosom mit angeklebten Fragmenten; e—g Fragmente. a—c, e 1,5%/24/24; d 0,75/4/0; f, g 0,09/24/48

Bei 0,75%/4/0 wurden Starmetaphasen gefunden. Einige waren sicher schon in den Anaphasezustand übergegangen (Abb. 5o—q), da die Chromosomen in Chromatiden aufgespalten waren. Die von GAULDEN und CARLSON (1951) beschriebene Ausbildung von kleineren

Sammelzentren für einige Chromosomen, die außerhalb des „focal-point“ eines „stars“ liegen, zeigt Abb. 5q. Abgesehen von der niedrigsten Konzentration (0,09% = 0,0023 molar) ist die Nachwirkung der DJPE in den Erholungszeiten auffällig.

Chromosomale Strukturdefekte (Abb. 6a—g) traten in der gleichen Häufigkeit wie bei Joduron auf. Fragmente und Reunionsbrücken fanden sich sowohl unmittelbar nach den entsprechenden Behandlungszeiten als auch in der Erholung.

b) *Diäthanolamin*. Wegen der stark alkalischen Reaktion wurde mit HCl neutralisiert. Die Untersuchung erfolgte in einer Verdünnungsreihe von 0,75% (0,071 mol.) bis 0,02% (0,002 mol.), bezogen auf Diäthanolamin ohne HCl. Bei 24ständiger Behandlung mit den höchsten Konzentrationen (0,75% = 0,071 molar und 0,3% = 0,036 molar) sterben die Wurzeln erst nach einer Erholungszeit von 24 Std ab.

BARTHELMMESS und ELKABARITY (1962) konnten bei den verwandten Stoffen Colamin (2-Amino-äthanol) und Triäthanolamin außer Diagonalstellung der Spindel keine mero- oder stathmokinischen Störungen beobachten. Für Diäthanolamin ergab sich aber hier schon bei einer 1,5mal niedrigeren Konzentration nach 4ständiger Behandlung eine deutliche Mitosestörung (Tabelle 3).

Die Wirkung des Stoffes ist deutlich *stathmokinisch* (Abb. 7). Während man bei 0,75%/4/0 in vielen Fällen die einzelnen Chromosomen der Metaphase noch gut unterscheiden kann, nehmen mit Ausdehnung der Behandlungszeit auf 24 Std die Verklumpungen stark zu (Abb. 7a, b). Bei 0,3%/4/0 fehlt dieser

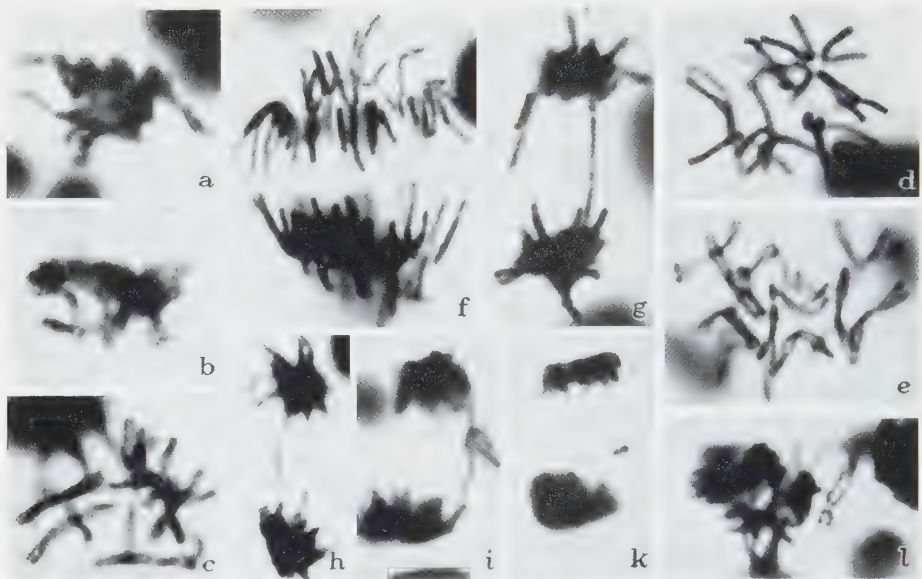


Abb. 7a—l. Wirkung von Diäthanolamin. a, b Pyknose; c Überalterungen und Stathmokinese; d, e Verteilungsstörungen; f tetraploide Anaphase; k, g—i Strukturdefekte; k Fragment, g—i Brücken. 1 80r/4; a, b 0,75/24/0; c—e, h, g 0,3/4/0; f 0,18/24/24; i 0,09/24/48

Tabelle 3. Gesamtstörungen in Prozent nach 4 bzw. 24stündiger Einwirkung von Diäthanolamin

Konzentration	4 Std.-Behandlung		24 Std.-Behandlung	
	Meta.	Ana.	Meta.	Ana.
0,36 % = 0,036 m	20,2	10,5	100	+
	30,2	46,2	100	+
	8,2	3,7	100	+
0,18 % = 0,018 m	6,0	—	18,2	10,0
	6,3	—	7,1	—
	6,4	5,3	34,9	+
0,094 % = 0,009 m	5,7	—	2,6	4,5
	7,1	—	—	—
	—	—	1,9	—
0,047 % = 0,005 m	4,3	—	14,3	14,3
	10,6	—	16,2	—
	2,7	7,7	18,5	18,8
0,024 % = 0,002 m	4,9	—	15,0	—
	4,7	6,3	11,4	3,8
	4,4	—	8,9	—

Gesamtkontrollen:
Normale Metaphasen 834; gestört 6 = 0,7 %
Normale Anaphasen 518; gestört —
† Für die Berechnung zu wenig Mitosen vorhanden.

DJPE etwa so hoch ist wie bei Joduron, dürfte die Erzeugung von Strukturmutationen wohl hauptsächlich auf den Pyridonanteil zurückzuführen sein.

Effekt bereits weitgehend, die Mitosen zeigen meist klare Bilder (Abb. 7d, e). Es scheint jedoch, daß viele Metaphasen den Anaphasezustand nicht mehr erreichen. Ihre Chromosomen bleiben mit ungetrennter Centromerregion und Überalterungserscheinungen liegen (Abbildung 7c). Außerdem konnten nie apolare Anaphasen (Chromatiden im Kernraum verstreut) gefunden werden. Die vorhandenen Anaphasen waren stets bipolar und zeigten als einzigen Effekt entweder Schrägstellung oder Stickybrücken.

An Strukturdefekten wurden insgesamt nur 5 Anaphasen mit freien Fragmenten gefunden (Abb. 7k).

Beide untersuchten Teilstoffe sind also spindelaktiv und rufen die gleichen Störungen wie Joduron hervor. Da die Häufigkeit von Fragmenten und Brücken nur bei

Insgesamt zeigt sich auch bei den Teilstoffen eine relativ hohe quantitative Variabilität der Wirkung.

Dijodpyridon selbst ist in Wasser so gut wie unlöslich (auch bei 48stündiger Einwirkung einer heiß „gesättigten“ Lösung ergaben sich in den Wurzeln keinerlei Mitoseanomalien). Es löst sich zwar in alkoholischer KOH, doch ist diese Lösung für Wurzeln viel zu basisch. Mangels eines geeigneteren Lösungsvermittlers konnte diese Substanz daher nicht geprüft werden.

2. Endograftin. Endograftin ist eine reine wäßrige Lösung der N,N-Adipin-di-(3-amino-2,4,6-trijod-benzoesäure) als Methylglukaminsalz.

Eine 4—5%ige Lösung wirkte auf die *Allium*-Wurzeln toxisch. Untersucht wurde eine Verdünnungsreihe in den Konzentrationen 2—0,12% (= 0,013—0,00075 molar).

Im Gegensatz zu den bisher geprüften Stoffen ruft Endograftin (oder vielleicht ein Teilstoff davon) wesentlich weniger Mitosestörungen hervor. Sehr starke Spindelstörungen traten

immer nur bei einzelnen Wurzeln einer Zwiebel auf, während sie bei anderen Wurzeln 10% nie überstiegen oder sogar erheblich darunter lagen (Tabelle 4).

Ähnlich wie bei Diäthanolamin (vgl. Tabelle 3) fällt auch hier auf, daß die Zahl gestörter Mitosen über mehrere Stufen der Verdünnungsreihe (bei Anaphasen bis 1/16!) nicht merklich abnimmt. Das

Maximum wird dabei zu ganz verschiedenen Zeitpunkten erreicht, oft erst in den Erholungsphasen, eigenartigerweise nur in Ausnahmefällen nach 24ständiger Behandlungszeit. Eine begründete Deutung kann dafür vorläufig noch nicht gegeben werden.

Endograftin wirkt auf die Spindel und die mitotischen Bewegungen qualitativ ähnlich wie Joduron (Abb. 8a—h), quantitativ jedoch wesentlich schwächer, ausgenommen bei einigen aus unbekannten Gründen stark reagierenden Wurzeln. Eine völlige Inaktivierung der Spindel findet sich nur ganz selten (Abb. 8a, f). In der Hauptsache kommt es in der Metaphase zu unsauberer Einordnung der Chromosomen in den Zelläquator. Non-congression tritt jedoch nur vereinzelt auf. In den Anaphasen kann man Spindelschrägstellung, Nachhinken und Liegenbleiben von Chromatiden und Chromosomen (non-disgression) beobachten. Manchmal sind die Mitosen auch nur stark aufgelockert.

Auffällig ist dagegen der hohe Anteil von Fragmenten (Abb. 8m—p) und Brücken (Abb. 8k, q) an der Gesamtzahl abnormer Anaphasen. Er beträgt rund 53%. Der größte Teil tritt in den Erholungszeiten von 48 und 72 Std auf. Der Anteil der Fragmente allein beläuft sich auf 20%. Selbst in den Metaphasen konnten 6mal freie Fragmente gefunden werden (Abb. 8i). Die vorhandenen

Tabelle 4. Statistik der normalen und abnormalen Meta- und Anaphasen in verschiedenen Konzentrationsstufen von Endograftin

Konzentration/ Behandlung/ Erholung	Normale Mitosen	Gestörte Mitosen %	Ver- teilungs- störungen	Chromo- somen- defekte
2%/24/0	100	2,9	2	1
	3	96,0	68	4
	80	1,2	1	—
0,5/24/72	86	2,3	2	—
	81	2,4	2	—
	83	7,8	6	1
	18	78,9	65	2
0,12/4/0	38	44,1	30	—
	83	7,8	7	—
	89	3,3	3	—
Kontrollen	1201	0,7	9	—

Anaphasebrücken können fast alle mit Sicherheit als Folgeerscheinungen von Brüchen und Restitutionsvorgängen angesehen werden, da nach Endografinbehandlung Stickiness (Abb. 8d), die zur Ausbildung von Verklebungsbrücken führt, nur ganz selten vorkommt.

Die Zahl der Kleinkerne ist gering. Von insgesamt 90 Wurzeln waren nur in 3 mehr als 10 vorhanden.



Abb. 8 a—q. Wirkung von Endografin. a—h Verteilungsstörungen; i, k, m—q Strukturmutationen; l non-disgression und I Chromatid. d, k, 12%/24/0; g, q 1/24/48; b 0,5/4/0; p, o 0,5/24/24; a, c, e, i 0,5/24/72; m 0,25/24/24; f, h 0,12/4/0; n 0,12/24/0

3. Triopac 200. Triopac ist eine wäßrige Lösung der 2,4,6-Trijod-3-acetylamino-benzoesäure als Natriumsalz. In der 32,3%igen Lösung sind pro ml 200 mg Jod enthalten.

Als höchste, nicht letale Konzentrationsstufe wurde eine 10fache Verdünnung von Triopac 200 gewählt, 3,23% = 0,057 molar, als niedrigste 0,2% = 0,0035 molar.

Stickverscheinungen waren in stärkerem Maße nur in den 24- und 48stündigen Erholungszeiten nach 24stündiger Behandlung in 0,057 mol. TriopacLösung vorhanden.

Eine 4stündige Behandlungszeit verursachte selbst in der höchsten Konzentration nur wenig Mitoseanomalien. Bei Ausdehnung der Einwirkungszeit auf 24 Std konnte nur eine 0,057 molare Lösung starke Verteilungsstörungen auslösen (Tabelle 5).

Die Metaphasestörungen treten in verschiedenen Formen auf. Beim 1. Typ sind die Chromosomen stark verkürzt, die Chromatiden liegen parallel (Abb. 9m). Alle Chromosomen sind im ganzen Zellraum zerstreut. Ein ähnlicher Effekt tritt z. B. auch nach Einwirkung von Sulfanilamid auf (PETERS, J. J. 1946). Der 2. Typ erinnert mehr an die „Colchicin-Mitose“ (LEVAN 1938). Die meist verkürzten Chromosomen sind verstreut, die Chromatiden spreizen bei verzögerter Centromerteilung mehr oder weniger stark (Abb. 9e, g, h). Beim 3. Typ sind alle Chromosomen in einer dichten irregulären Gruppe in der Zellmitte versammelt (Abb. 9d). Schließlich tritt als 4. Typ die Mehrgruppenmetaphase (von LEVAN und LOTFY 1949 nach Naphtalinessigsäure-Behandlung beobachtet) auf. Selten sind dabei die Chromosomen deutlich in 2 Gruppen aufgeteilt („distributives C-mitosis“ NYBOM und KNUTSSON 1947).

Meist werden kleinere Gruppen aus einzelnen Chromosomen gebildet, während sich die Mehrzahl in sternförmiger Anordnung in einer größeren Hauptgruppe orientiert (Abb. 9a—c). Als 5. Typ findet sich gelegentlich die Starmetaphase.

Gelingt die Teilung des Centromers, so entstehen die den 5 Metaphasentypen entsprechenden Anaphasekonfigurationen (Abb. 9i, k, n, p, unten). Dabei fallen besonders die von Mehrgruppenmetaphasen abstammenden, stark irregulären Anaphasen auf (Abb. 9k, l, p, oben).

Schon die Prophasen sind deutlich beeinflusst. Die Kernmembran bleibt wahrscheinlich lange erhalten, so daß viele Prophasen überaltern. Die Chromosomen sind dann stark verkürzt; es wird mindestens Metaphaselänge erreicht (Abb. 9p Mitte). Während bei einigen Prophasen noch deutlich die Centromerlage der vorausgegangenen Telophase erkennbar ist, sind bei anderen die Chromosomen

Tabelle 5. Gesamtstörungen in Prozent nach 4 bzw. 24stündiger Einwirkung von Triopac

Konzentration	4 Std.-Behandlung		24 Std.-Behandlung	
	Meta.	Ana.	Meta.	Ana.
0,057 m	4,3	5,6	100	+
	10,9	—	+	+
	3,7	—	100	100
0,029 m	2,9	—	—	7,4
	11,1	+	4,3	+
	2,0	—	17,8	+
0,014 m	6,3	—	4,5	5,9
	6,4	—	+	+
	2,5	—	—	—
0,007 m	10,0	—	—	—
	—	—	2,6	2,6
	2,5	—	—	—
0,0035 m	10,0	—	nicht untersucht	
	5,9	10,0		
	5,4	—		

Gesamtkontrollen:

Normale Metaphasen 640; gestört —

Normale Anaphasen 225; gestört

1 = 0,4%

+ Für die Berechnung zu wenig Mitosen vorhanden.

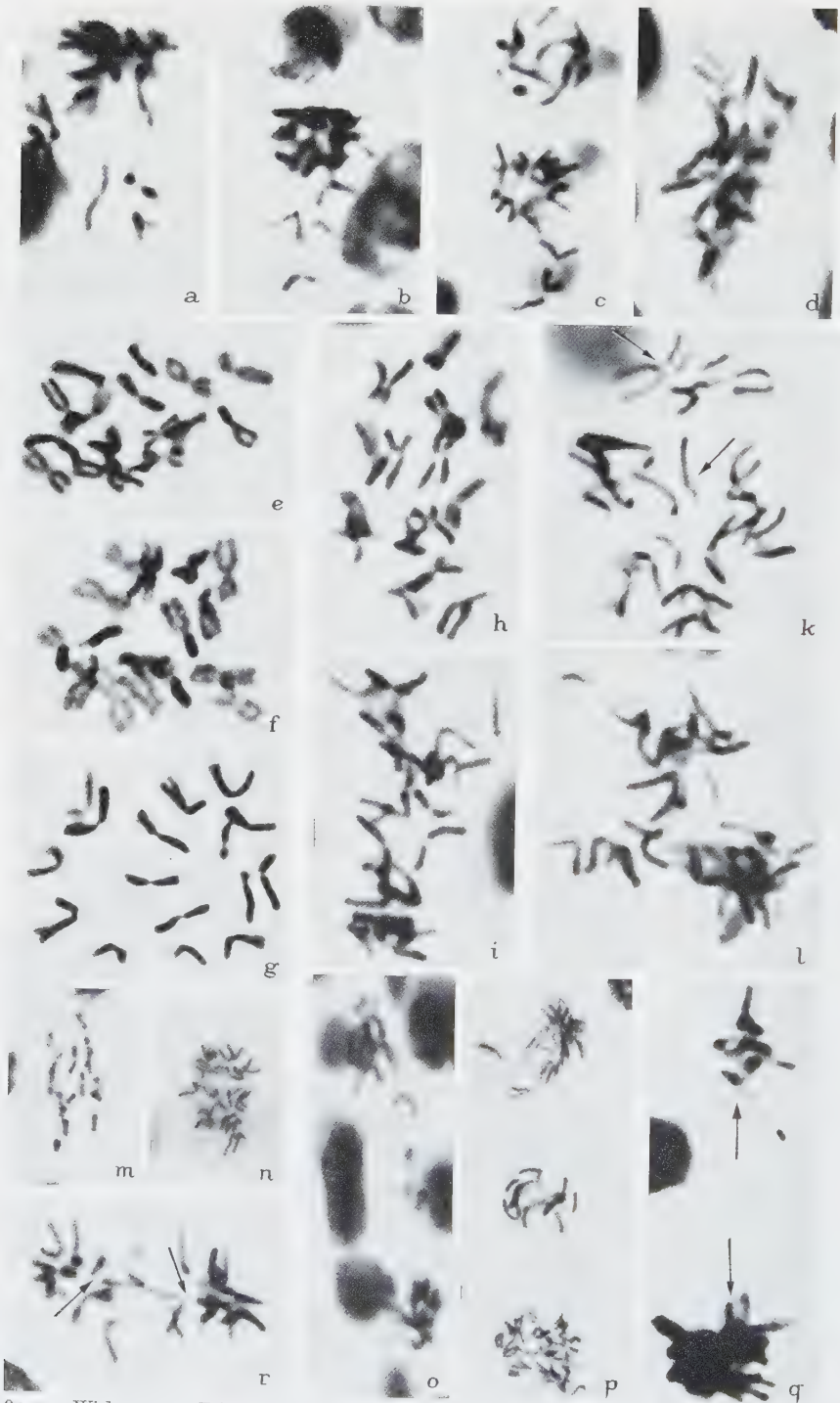


Abb. 9a—r. Wirkung von Triopac und Vesamin. a—f, h, i, m Triopac; g, k, l, n—r Vesamin. a—q Spindeldefekte; r dizentrisches Chromosom. a—c, e, f, h, i, m 0,057 mol./24/0; d 0,057 mol./24/48; g, l, n, o, r 0,086 mol/18/0; k, p, q 0,043 mol./24/0

schon innerhalb der Kernmembran in ähnlicher Weise umgeordnet, wie bei stathmokineticischen Metaphasen. Wenn es nicht mehr zu einer normalen Metaphaseanordnung kommt, kann schon aus der Prophase die Rückbildung in einen Ruhekern erfolgen.

Die Inaktivierung des Spindelapparats bleibt nach der 24stündigen Behandlung mit 0,057 Mol Triopac in Erholung bis nach 48 Std voll erhalten. Es scheint, daß in diesem Zeitraum auch kaum neue Mitosen anlaufen, sondern nur die bereits stathmokineticisch gestörten, in Interphasekerne umgebildet werden. Diese enthalten teilweise sehr große Nukleolen, die oft den ganzen Kernraum ausfüllen und das chromatische Material in die Randzonen verdrängen. Erst nach 72 Std Erholung liegen die Störungen unter 5%. Auch in allen schwächeren Konzentrationen der Verdünnungsreihe waren (außer bei 0,007 mol.) stets weniger Mitosen als in den Kontrollen vorhanden.

Selbst in der höchsten Konzentrationsstufe traten trotz der vielen irregulären Mitosen keine Kleinkerne auf. Bei sämtlichen 75 untersuchten Wurzeln konnten insgesamt nur 27 Kleinkerne festgestellt werden.

Chromosomenstrukturdefekte zeigten sich nur bei 2 Anaphasen.

4. Vesamin. Vesamin besitzt die gleiche chemische Konstitution wie Triopac. Da es in der Röntgendiagnostik in einer konzentrierteren Lösung (330 mg J/cm^3) als dieses zur Anwendung gelangt, wurde es in einer stärkeren Konzentration untersucht. Als erste Konzentration wurde wieder eine 10fache Verdünnung des Grundstoffes hergestellt. Von der entstehenden 5%igen (0,086 mol.) Lösung wurde eine Verdünnungsreihe bis 0,156% (0,0027 mol.) untersucht. Die Werte liegen dabei etwa zwischen denen der Triopacreihe.

Nach 4stündiger Behandlungszeit liegen die Gesamtstörungen überall sehr niedrig; abgesehen von einer Wurzel übersteigen sie 6% nicht (Tabelle 6).

Der Störungscharakter entspricht in allen Einzelheiten dem von Triopac (Abb. 9). Eigenartigerweise ist jedoch hier eine 0,043 mol. Lösung toxischer als die 0,057 mol. Triopaclösung. Selbst 0,022 Mol rufen bei einigen Wurzeln noch vollkommene Spindelstörung hervor.

Sowohl nach Behandlung als auch nach Erholung waren nur sehr wenig Kleinkerne und Tropfen vorhanden. Das Maximum wurde bei 0,086 mol/4/0 mit insgesamt 15 erreicht.

Tabelle 6. Gesamtstörungen in Prozent nach Einwirkung von Vesamin

Konzentration	4 Std-Behandlung		24 Std-Behandlung		24 Std-Erholung	
	Meta.	Ana.	Meta.	Ana.	Meta.	Ana.
0,086 m	5,9	—	90,0	+	Wurzeln abgestorben	
	—	—	97,2	100		
	4,7	—	97,0	100		
0,043 m	5,4	4,8	95,7	+	100	100
	2,6	5,3	100	+	100	100
	2,3	—	97,8	+	100	100
0,022 m	—	5,6	100	63,6	—	—
	—	—	28,6	25,0	2,2	—
	—	—	10,8	—	—	—
0,011 m	11,9	—	5,4	4,0	4,3	—
	2,3	—	2,3	—	4,8	—
	2,9	—	2,1	—	—	—
0,0054 m	—	—	19,5	9,6	33,3	17,6
	—	—	—	—	2,4	4,3
	—	—	4,5	—	—	—
0,0027 m	—	—	6,7	—	—	—
	—	5,0	—	—	2,3	—
	—	—	—	—	—	3,8

Gesamtkontrollen:

Normale Metaphasen 664; gestört 6 = 0,9%

Normale Anaphasen 292; gestört 2 = 0,7%

+ Für die Berechnung zu wenig Mitosen vorhanden.

Strukturmutationen konnten auch hier nur bei 3 Anaphasen beobachtet werden. Eine Anaphase besaß ein freies Fragment, zwei weitere enthielten dizentrische Chromosomenbrücken (Abb. 9r).

Bestrahlungsversuche

Diese Versuche wurden durchgeführt, um zu prüfen, ob die KM-Lösungen bei Bestrahlung zu einer verstärkten Schädigung der Zellkerne führen oder ob sie als chemische Strahlenschutzstoffe zu wirken vermögen.

Dazu wurden die Wurzeln von je 3 Zwiebeln 4 Std in den Lösungen der verwendeten KM (ausgenommen Endograftin) vorbehandelt, anschließend sofort unter Luftzutritt bei Zimmertemperatur bestrahlt und dann in das leere Grundmedium (Mairöllösung, s. S. 507) zurückversetzt. Die Untersuchung erfolgte nach 4,24 und 48 Std, vom Zeitpunkt der Bestrahlung an gerechnet. Ausgezählt wurden in jedem Fall 50 Gesichtsfelder mit gut auswertbaren Anaphasen. In sämtlichen Versuchen erfolgte keine Vorbehandlung mit Colchicin und Oxychinolin, 1. um zusätzliche Einwirkungen auf das Spitzenmeristem weitgehend auszuschließen und 2. um die Spindeleffekte der KM erfassen zu können. Um Versuchsbedingungen zu schaffen, die den Verhältnissen bei der röntgendiagnostischen Anwendung möglichst nahe kommen, wurden die dort üblichen physikalischen Bedingungen (200 kV, 20 mA/sec, 2 mm Al, 1 mm Cu) benutzt und möglichst niedrige Strahlendosen gewählt: 20r in 20 sec, 40r in 35 sec und 80r in 70 sec. Die Bestrahlungen wurden mit einem Therapie-Apparat RT 200 der C. H. F. Müller AG, Röntgenwerk Hamburg durchgeführt. Die Dosisleistung wurde mit einem Hammer-Dosimeter der Physikalisch-Technischen Werkstätten Freiburg i. Br. gemessen¹.

Die durch Röntgenstrahlen induzierten Kernschäden traten in ihren typischen Erscheinungsformen (Chromosomen- und Chromatidenbrüche, Fragmente, dizentrische Brücken, Kleinkerne) auch in diesen Versuchen auf. Sie sind in vielen Berichten in der Literatur ausführlich beschrieben (HOLLAENDER 1954/56; LANGENDORFF 1954; MARQUARDT 1937, 1938, 1949) und sollen daher hier nicht wiederholt werden. Als Beleg möge hier nur eine Reihe von Bildern dienen, die solche Röntgenschäden an der Mitose zeigen (Abb. 10). Das Hauptgewicht lag in dieser Untersuchung auf dem quantitativen Effekt nach kombinierter KM-Behandlung und Röntgenbestrahlung. Als Maß wurde die prozentuale Häufigkeit von Anaphasen mit Fragmenten oder Brücken gewählt.

Verklebungen waren bei sämtlichen Versuchen gering. Da man besonders in älteren Anaphasen zwischen „Verklebungs-“ und „Strukturbrücken“ nur schwer unterscheiden kann, wurden sämtliche Brücken zusammengefaßt. Spindelstörungen wurden in den Tabellen mit Verklebungserscheinungen (soweit nicht Brücken) als „unspezifische“ Störungen zusammengezogen.

1. Röntgenkontrollen. Tabelle 7, Abb. 10.

Es ergibt sich eine deutliche Dosisabhängigkeit im Auftreten der Brücken und Fragmente. Verklumpungen und Stickiness treten stärker nur nach Bestrahlung mit 80r auf. Tabelle 7 zeigt eine Abnahme der Störungen mit zunehmender Erholungszeit. Nach 24 Std ist bei 40r und 80r die Zahl der Anaphasen deutlich verringert. Charakteristisch für den Späteeft der Bestrahlung ist das Auftreten von zahlreichen Kleinkernen (MARQUARDT 1937, PETERS 1954). Daneben finden sich noch kleinere, stark feulgenfärbbare Tropfen. Die Zahl der Kleinkerne ist dosisabhängig und nach 48 Std am höchsten. Die Spindelstörungen sind

¹ Für die Unterstützung möchte ich Herrn Chefarzt Dr. SCHÖN und Herrn Dr. MEINDL vom Krankenhaus des Dritten Ordens, München auch an dieser Stelle herzlich danken!

gering und äußern sich hauptsächlich als Auflockerung der Meta- und Anaphasen, lagging und non-disgrression. Da Nichteinwandern und Nichttrennen unter Umständen auch durch inaktivierende Treffer im Centromer hervorgerufen werden können, wurden solche Verteilungsfehler hier zu den Spindelstörungen gezählt. Nur 2 Wurzeln zeigten mehr als 5%.

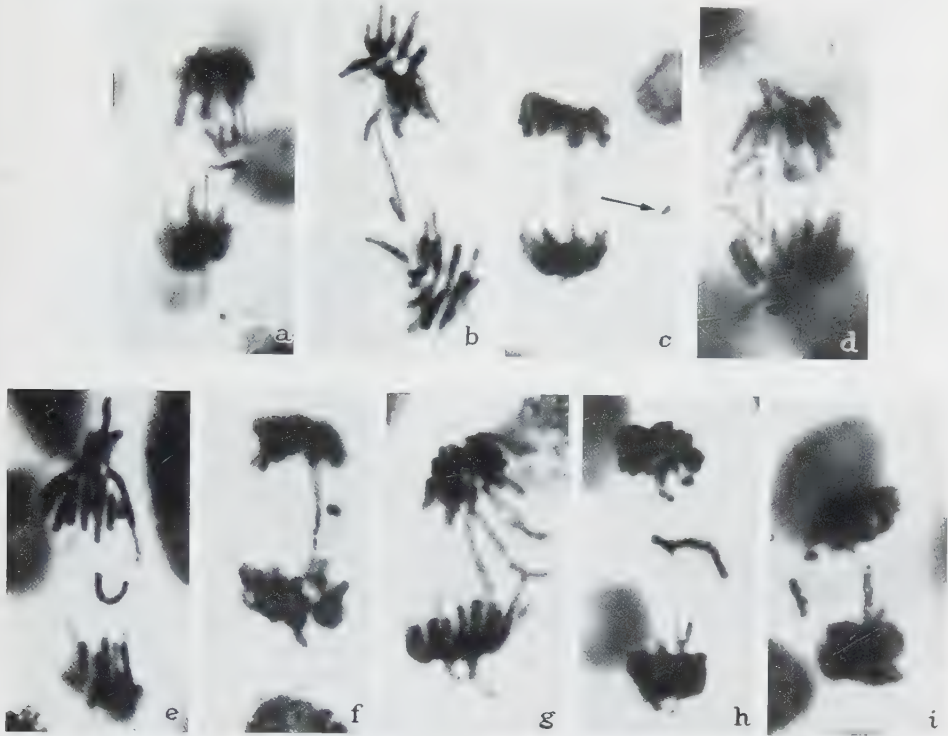


Abb. 10a—i. Röntgenkontrollen. a—c 20r/24; d, e 40r/24; f 40r/4; g—i 80r/4

Nach 20r/48¹ und 80r/48 traten bei einigen Wurzeln sog. „C-Tumore“ auf, wie sie auch von LEVAN (1942) als Bestrahlungseffekte beschrieben wurden.

2. Joduron 1% = 0,02 mol. Tabelle 7, Abb. 11a—e.

Die 1%ige Lösung entspricht der mittleren Konzentration der Verdünnungsreihe.

Stickiness trat stärker nur nach 80r auf, störte aber in den niederen Dosen und den Erholungszeiten den Ablauf der Kernteilungsvorgänge nicht. Die im Vergleich mit den entsprechenden unbestrahlten Versuchsreihen geringere Zahl von Verteilungsstörungen ist zum Teil wohl durch die 4stündige Erholungspause zwischen Bestrahlung und Fixierung zu erklären.

Qualitativ zeigen die Spindelstörungen den gleichen Charakter wie in den Versuchen ohne zusätzliche Bestrahlung. In den Metaphasen ist jedoch non-congruence häufiger. In vielen Anaphasen finden sich liegende Chromatiden.

¹ 20r/48 = Röntgendosis/Erholungszeit in Stunden.

Tabelle 7. Statistik der normalen und abnormen Mitosen in verschiedenen Erholungszeiten nach 4stündiger Einwirkung der KM und anschließender Bestrahlung mit 20r, 40r und 80r

	Dosis/ Erho- lung	Anaphasen				Anaphasen mit un- spezifischen Störungen	%	Meta- phasen mit Frag- menten
		nor- mal	mit Frag- menten	mit Brücken	%			
R-Kontrolle	20 r/4	122	10	2	9,0	10	7,6	1
		/24 131	6	4	7,1	5	3,7	—
		/48 80	2	1	3,6	9	10,1	1
	40 r/4	123	23	5	18,5	8	6,1	—
		/24 78	8	—	9,3	11	12,4	1
		/48 122	—	4	3,2	12	10,0	—
	80 r/4	87	33	20	37,8	11	11,2	1
		/24 91	10	4	13,3	4	4,2	1
		/48 120	5	2	5,5	4	3,3	—
Joduron 1 % = 0,02 mol.	20 r/4	135	20	11	18,7	2	1,5	—
		/24 119	6	5	8,5	3	2,5	—
		/48 135	—	2	1,5	—	—	—
	40 r/4	110	13	13	19,1	5	4,3	—
		/24 135	14	9	14,6	2	1,5	1
		/48 150	—	1	0,7	5	3,2	1
	80 r/4	62	16	5	25,3	8	11,4	—
		/24 132	15	15	18,5	5	3,7	3
		/48 109	4	6	8,4	2	1,8	1
DJPE 0,75 % = 0,019 mol.	20 r/4	141	7	1	5,4	3	2,1	—
		/24 144	7	—	4,6	2	1,4	—
		/48 154	6	1	4,3	2	1,3	—
	40 r/4	140	18	—	11,4	—	—	—
		/24 148	9	—	5,7	4	2,6	—
		/48 160	4	—	2,4	2	1,2	—
	80 r/4	136	19	4	14,5	1	0,7	1
		/24 120	12	1	9,8	11	8,4	—
		/48 142	8	—	5,3	1	0,7	1
Diäthanolamin 0,375 % = 0,035 mol.	20 r/4	144	5	—	3,4	5	3,4	—
		/24 152	—	1	0,7	9	5,6	—
		/48 150	2	2	2,6	4	2,6	2
	40 r/4	145	1	2	2,0	14	8,8	1
		/24 96	1	2	3,0	1	1,3	—
		/48 152	3	1	2,6	1	0,6	—
	80 r/4	46	4	2	11,5	2	4,2	—
		/24 103	4	2	5,5	3	2,8	1
		/48 168	—	4	2,3	—	—	1
Triopac 0,0035 mol.	20 r/4	154	11	—	6,7	—	—	—
		/24 130	5	—	3,7	3	2,3	1
		/48 101	5	—	4,7	—	—	1
	80 r/4	99	42	9	34,0	6	5,7	1
		/24 140	18	1	12,0	—	—	3
		/48 139	18	1	12,0	1	0,7	3
Triopac 0,057 mol.	20 r/4	102	6	—	5,6	2	1,9	—
		/24 155	2	3	3,1	1	0,6	—
		/48 127	2	—	1,5	1	0,8	—
	80 r/4	94	14	9	19,7	27	22,3	—
		/24 140	11	7	11,4	3	2,1	1
		/48 150	5	—	3,2	1	0,7	1

Tabelle 7 (Fortsetzung)

	Dosis/ Erho- lung	Anaphasen				Anaphasen mit un- spezifischen Störungen	%	Meta- phasen mit Frag- menten
		nor- mal	mit Frag- menten	mit Brücken	%			
Vesamin 0,021 mol	20 r/4	153	2	—	1,3	—	—	—
	/24	156	—	1	0,6	1	0,6	—
	/48	156	—	—	—	—	—	—
	40 r/4	131	6	2	5,8	8	5,8	—
	/24	152	4	2	3,8	2	1,3	1
	/48	158	1	—	0,6	1	0,6	1
	80 r/4	116	13	7	14,7	2	1,7	—
	/24	138	3	1	2,8	3	2,8	3
	/48	149	4	3	4,5	2	1,3	3



Abb. 11a–n. Kombination von Kontrastmitteln und Bestrahlung. a–e Joduron; f–m Triopac; n DJPE: a, b, n 40r/4; c, e 20r/4; d 40r/24; f 80r/4; g–k 80r/0,057 mol/4; l, m 80r/0,035 mol/4

Das Auftreten von Strukturmutationen (Brücken und Fragmente in Anaphasen) zeigt hier keine so klare Dosis-Abhängigkeit wie in den „R-Kontrollen“

(Tabelle 7). Bei 20r liegt der Effekt höher, bei 40r gleich und bei 80r niedriger als in den R-Kontrollen. Aus den schon genannten Gründen der hohen Variabilität und des dafür zu geringen ausgewerteten Materials läßt sich vorläufig nicht feststellen, ob der Unterschied signifikant ist. Auffällig ist der hohe Anteil von Brüchen an den Strukturstörungen.

3. *Dijodpyridonessigsäure* 0,75% = 0,0185 mol. Tabelle 7, Abb. 11n.

Tabelle 7 zeigt, daß sämtliche Werte klar unter denen der R-Kontrolle liegen.

Die Art der Spindelstörungen war von den R-Kontrollen nicht verschieden. Auffällig war die Zunahme an verklumpten und überalterten Mitosen, doch bleiben auch hier diese unspezifischen Störungen unter 10%.

4. *Diäthanolamin* 0,375% = 0,035 mol. Tabelle 7, Abb. 7l.

Struktureffekte sind noch geringer als bei DJPE-Vorbehandlung. Sie erreichen nach 40r und 80r die niedersten Werte aller untersuchten Stoffe. Unter insgesamt 1231 Anaphasen fanden sich nur 20 mit Fragmenten (in einer einzigen Wurzel besaßen nach 80r/24, 11 von 55 Anaphasen Fragmente. Diese Ausnahmewurzel wurde nicht in die Tabelle miteinbezogen). 4 der 16 Brüchen gehen wahrscheinlich auf Stickiness zurück.

Das Maximum der Kleinkerne trat wieder nach 48 Std auf.

Die Spindelstörungen in den Metaphasen äußerten sich hauptsächlich als unsaubere Einordnung der Chromosomen in die Äquatorialebene oder als non-congression. Wenige Anaphasen zeigen Schrägstellung der Spindel. Gelegentlich können nachhinkende Chromatiden beobachtet werden. Verklumpte und überalterte Mitosen waren ebenfalls vorhanden. Extrem starke Verteilungsstörungen (70–80%), mit einer Vielzahl von totalverklumpten Metaphasen blieben auf einzelne Wurzeln beschränkt. In solchen Ausnahmefällen fanden sich kaum Anaphasen.

5. *Triopac*. Tabelle 7.

Nachdem von FLEMMING (1962) bei Modellversuchen in vitro eine starke Hemmung der Strahlenwirkung durch Triopac festgestellt wurde, sollte in diesen Versuchen überprüft werden, ob dieses KM eine solche Schutzwirkung auch in vivo entfaltet. Zu diesem Zweck wurden Wurzeln mit der höchsten (0,057 mol.) und der niedersten Konzentration der Verdünnungsreihe (0,0035 mol.) vorbehandelt und anschließend jeweils der höchsten (80r) und niedersten (20r) Strahlendosis ausgesetzt.

a) 0,0035 mol. *Triopac*. (Abb. 11l–m).

Die Strukturdefekte erreichen nach 20r und 80r fast die Zahlen in den R-Kontrollen (Tabelle 7). Sie nehmen nach 24 Std Erholung parallel zur Kontrolle ab. Daß sie nach 48 Std bei beiden Dosen nicht weiter zurückgehen, könnte angesichts des ungenügenden Materialumfangs statistischer Zufall sein. Kleinkerne sind wiederum nach 80r/48 am häufigsten.

Spindelstörungen sind in den Meta- und Anaphasen kaum vorhanden und betreffen jeweils nur einzelne Chromosomen.

b) 0,057 mol. *Triopac*. (Abb. 11f–k).

Auch hier war eine Dosisabhängigkeit vorhanden, doch ergaben sich deutlich weniger Strukturmutationen als in den R-Kontrollen. Aber auch gegenüber der 0,0035 mol. Lösung waren sowohl nach 20r als auch nach 80r die Anaphasen

mit Fragmenten etwa um die Hälfte verringert. In den Erholungszeiten nahmen die Effekte wieder ab.

Die meisten Kleinkerne traten bei 80r wieder nach 48 Stunden auf. Bei 20r waren in sämtlichen Erholungszeiten zusammen nur 15 Kleinkerne vorhanden.

Starke Spindelstörungen zeigten sich nur nach 80r/4.

6. Vesamin 0,021 mol. Tabelle 7.

Mit Vesamin treten prozentual nach Diäthanolamin am wenigsten Strukturstörungen auf. Bei 20r/4 wird mit 1,3% der niedrigste Wert überhaupt erreicht. Für die Kleinkerne gilt das gleiche wie bei den vorher untersuchten Stoffen.

Die Spindelstörungen entsprechen denen bei Triopac 0,0035 mol.

Diskussion

1. Grundvorgänge der cytologischen Effekte. a) *Spindelstörungen.* Die chemische Struktur der hier untersuchten KM läßt — abgesehen von den für die Absorption unwesentlichen Begleitstoffen Diäthanolamin und Methylglukamin — jeweils eine lipophile (Halogenträger) und eine hydrophile (Fettsäure bzw. Carboxylgruppe) Gruppierung erkennen (DORN 1957). Moleküle von derartigem, hinsichtlich der Affinität zu Wasser polarem Bau werden in Phasengrenzschichten bzw. plasmatischen Membranen orientiert eingelagert. Dies kann für ihre Wirkung von Bedeutung sein.

Polar gebaute Anektrolyte (z. B. aliphatische Alkohole, Ketone, Äther) verursachen merokinetischen Mitoseverlauf (BARTHELMESS 1957; BARTHELMESS u. EINLECHNER 1959; BARTHELMESS u. ELKABARITY 1962). Vergleichbare Untersuchungen mit ähnlich gebauten Elektrolyten scheinen bisher nicht vorzuliegen, doch fällt auf, daß unter den stärker spindelstörenden Substanzen keine Säure ist. Halogen-Substitution am hydrophoben Teil merokinetischer Stoffe verschiebt die Reaktion in Richtung Stathmokinese (BRETSCHNEIDER, mündlich, unveröff.). Daß die hier geprüften KM nur eine sehr geringe merokinetische Wirkung besitzen, ist also nach den bisherigen Erfahrungen verständlich. Außer Endograftin zeigen sie aber alle deutlich *stathmokinetische Wirkung*, die sich als partielle oder totale Inaktivierung oder Zerstörung des Spindelmechanismus äußert. Im ersten Fall kommt es zu einer allgemeinen unsauberen Einordnung der Chromosomen in die Äquatorialplatte oder zu Kongressionshemmungen einzelner Chromosomen beim Übergang von der Pro- zur Metaphase. In der Anaphase tritt verzögerte Bewegung einzelner Chromatiden zu den Polen (lagging) oder Nicht-Teilnahme einzelner Chromosomen (non-disgression) und Chromatiden an den Anaphasevorgängen auf. Möglicherweise hängt dieses Sonderverhalten nicht eingewandelter Chromosomen mit einer abnormen Verbindung zwischen Chromosomen und Kernmembran in der Prometaphase zusammen, wie sie auch von BARTHELMESS u. EINLECHNER (1959) als Wirkungsmechanismus für die Entstehung von non-congression vorgeschlagen wurde. Bei lagging und non-disgression liegt wahrscheinlich eine Störung der Leitfaser-Centromer-Funktion vor. Wenn man nach der Spindelauffassung von LETTRÉ u. LETTRÉ (1957); RESENDE, LETTRÉ u. LETTRÉ (1959) eine Persistenz der Chromosomenspindelfaser annimmt, so müßten abseitsliegende Chromosomen und Chromatiden, die nicht an die Pole bewegt werden und sich in der Folge zu Kleinkernen umbilden, vollkommen vom Bewegungsapparat der Zelle abgesprengt worden sein (vgl. auch W. SIEBS 1960a). Bei

einer totalen Zerstörung der Spindel oder Verhinderung ihrer Bildung kann überhaupt keine geordnete Bewegung mehr durchgeführt werden. Es kommt dann zur typischen apolaren Stathmokinase. Bei bipolarer Stathmokinase verläuft die Mitose nur bis zur Metaphase, aus der dann eine telophaseähnliche Rückbildung zu einem tetraploiden Ruhekern einsetzt.

Eine besondere Form der Spindelstörungen stellen die Starmetaphasen dar. Sie kamen nach Einwirkung solcher Stoffe nur in einigen Wurzeln vor und dort nur in geringer Zahl. Für ihre Entstehung gibt es eine Reihe von Erklärungen (unter anderen BARBER u. CALLAN 1943; GAULDEN u. CARLSON 1951; ÖSTERGREN 1950; SIEBS 1960b). Es wäre auch denkbar, daß diese sternförmigen Metaphasen durch Erhalt der Telophaselage der Chromosomen aus der vorangegangenen Teilung zustande kommen. Die Chromosomen werden dabei von nur einem aktiven Spindelteilstück zu einem Pol ausgerichtet. Vom 2. Pol her gelingt keine oder nur sehr schwache Spindelausbildung. Letztere könnte die Entstehung kleinerer Nebengruppen erklären. Die angewandte Fixierungs- und Färbungsmethode erlaubt keine klare Darstellung der Spindel, geschweige denn einzelner Leitfasern. Daher kann zwischen Lähmung, Ablösung, Auflösung und Nicht-Bildung vorerst nicht entschieden werden. Es dürfte aber wohl kaum einen Zweifel geben, daß *die ganze Vielfalt der mitotischen Verteilungsstörungen auf ein gemeinsames Wirkungsschema der geprüften KM zurückgeht*. Eine bestimmte Atomkonfiguration im Molekül dafür verantwortlich zu machen ist einstweilen kaum möglich, da die stathmokinisch wirksamen Stoffe insgesamt von außerordentlich verschiedener Konstitution sind. Immerhin fällt auf, daß Vesamin bzw. Triopac eine Acetylaminogruppe enthält, die auch im Molekül des Colchicins und des Acetanilids auftritt. Vielleicht könnte es in der Zelle zu einer Abspaltung und Bildung von Acetamid kommen, welches „C-mitotisch“, d. h. stathmokinisch aktiv ist (ÖSTERGREN 1944, ELKABARITY 1961 unveröffentlicht). Ebenso wäre der Benzoesäureanteil wirksam (ÖSTERGREN 1944).

Durch die Dissoziation von Joduron sind in der Lösung nebeneinander DJPE als Anion und Diäthanolamin als Kation enthalten. Daraus darf man wohl schließen, daß in Wirklichkeit nicht das Salz Joduron, sondern seine beiden *Ionen* nebeneinander in der Zelle zur Wirkung kommen.

Die stathmokinische Wirkung beider Teilstoffe wird in nahezu äquimolaren Lösungen hervorgerufen (mit Sicherheit in einer etwa 0,036 molaren Lösung). Bei Neutralisation zu dem Salz Diodonum = Joduron müßte dieses im gleichen Konzentrationsbereich spindelaktiv sein. Dies wurde für Joduron tatsächlich bestätigt (0,059—0,0037 molar).

Für den Angriff auf die Spindel könnte man 1. eine direkte Reaktion des KM-Moleküls mit den Polypeptidketten der Spindelsubstanz annehmen (ÖSTERGREN 1944); 2. könnte eine indirekte Wirkung auf die Mitose durch einen Eingriff in das Stoffwechselgeschehen der Zelle vorliegen.

b) *Unspezifisches Überaltern und Verkleben*. Wohl in enger Verbindung mit der Wirkung der KM-Lösungen auf den Spindelapparat stehen die verschiedenen Formen verklebter und überalterter Mitosestadien. Sie treten bei allen untersuchten Stoffen in den Konzentrationsstufen auf, wo auch die stärksten Spindelstörungen induziert wurden. Überalterte Metaphasen zeigen dabei weniger das nach Colchicinbehandlung entstehende Spreizen der Chromatiden als vielmehr

eine Verdickung und Verkürzung der Chromosomenarme. Vielfach ist damit eine Unterbeladung größerer Chromosomensegmente mit Nukleinsäuren verbunden, was eine helle Färbung (Feulgen!) zur Folge hat.

Regelmäßig treten aber Defekte dieser Art auch in niedrigen Konzentrationen auf, wo sie oft den Hauptteil der Störungen ausmachen. Die Wirkung besteht wohl hauptsächlich in einer Verlangsamung des Ablaufes der Bewegungen gegenüber der Zustandsänderung der Chromosomen. Die Ursache kann in einer Änderung der Plasmaviskosität, einer Verzögerung der Centromerteilung, einem Angriff auf die Spindelsubstanz oder einem allgemeinem Energiedefizit liegen. Ebenso wenig Sicheres ist über die Ursache der „Verklebung“ (stickiness) der Chromosomen bekannt, die namentlich in den höheren Konzentrationen auftritt. Meist wird eine Änderung der achromatischen Hülle („Matrix“) der Chromosomen angenommen; eine irgendwie fundierte Vorstellung darüber scheint es aber nicht zu geben. Diese Stickiness ist ein sehr unspezifischer Effekt, sie kann aber die normale Mitose derart stören, daß es zu Verteilungsfehlern und Strukturdefekten an Chromosomen kommt.

c) *Kleinkerne*. Nach den im vorangehenden beschriebenen und abgebildeten Mitosefehlern müssen die Kleinkerne *sehr verschiedener Art und Herkunft* sein:

Die größten, oft Nukleolen enthaltenden, stammen wohl von kleinen Chromosomengruppen aus stathmokineticischen Mehrgruppen-Metaphasen oder -Anaphasen, einige auch von mehrpoligen merokineticischen Mitosen. Die kleineren stammen von einzelnen Chromosomen ab, die entweder an der metaphasischen oder anaphasischen Bewegung nicht teilgenommen haben (non-congression, non-disgression). Die kleinsten noch strukturierten Kerne stammen von Fragmenten von Chromosomen oder Chromatiden.

Die Zunahme ihrer Zahl in den Erholungszeiten nach Ende der Behandlung scheint zweierlei Ursachen zu haben. Infolge der Reste wirksamer Substanz oder der Nachwirkung der Behandlung ereignen sich Verteilungsfehler, die Kleinkerne liefern, auch noch Stunden und Tage später. Das ist direkt beobachtbar. Andererseits wissen wir aus der Analyse der zeitlichen Verteilung strahleninduzierter chromosomaler Defekte, daß auch in Kernen, die während der Behandlung in Interphase sind, Brüche von Chromosomen, Chromatiden und noch kleineren Untereinheiten ausgelöst werden, die aber erst nach einer oder mehreren weiteren Mitosen zum Auftreten freier Fragmente führen können. Die Zunahme der Kleinkerne bis 48 Std zeigt aber auch, daß mindestens bis zu dieser Zeit keine Resorption derselben erfolgt (vgl. PETERS, K. 1954). Ein erneuter Eintritt in Mitose, wie LA COUR (1953) angibt, konnte aber ebenfalls nicht beobachtet werden.

Neben solchen größeren strukturierten Formen treten immer wieder sehr kleine, homogene, stark anfärbbare Gebilde auf, die von K. PETERS (1954) und MARQUARDT (1937) ebenfalls als Kleinkerne bezeichnet werden. Es könnte sich dabei aber auch um Chromatintröpfchen handeln, die beim Auseinanderreißen von Brücken frei werden. Da manchmal solche Tropfen durch feine Fäden mit einem Ruhekern verbunden sind, könnte es sich auch um ausgeschiedene Kernsubstanz handeln (KATO 1955; KECK u. HOFFMANN-OSTENHOF 1954). Weiter wäre noch an Degenerationsformen älterer Kleinkerne zu denken.

d) *Strukturmutationen*. Besonders Joduron und Endografin wirken stark unmittelbar auf die *Nukleoproteinstruktur* ein. In keinem Fall aber treten diese Defekte so häufig wie Verteilungsstörungen auf. Da die meisten Fragmente und dizentrischen Anaphasebrücken nicht unmittelbar nach Ende der Behandlung, sondern erst in den Mitosen der Erholungsphase auftreten, dürfte der strukturmутagene Angriff der KM vorwiegend am Ruhekern erfolgen. Genauere Untersuchungen über den Zeitpunkt konnten noch nicht vorgenommen werden.

Die von MANARTE und RESENDE (1952) durch 2,3,5-Trijodbenzoesäure in *Allium cepa* induzierte Pyknose, Chromatinverarmung und Fragmentation von Ruhekernen konnte nicht beobachtet werden.

2. Genetische Folgen der cytologischen Effekte. Die *Funktionsstörungen des Spindelapparates* führen bei der Mitose in der Regel zu Tochterkernen mit *abgeänderter Chromosomenzahl*. Bei apolarer, monopolarer (— Star-Metaphase) und bipolarer Stathmokinese kommt es zur Ausbildung eines einzigen Ruhekerns, in den sämtliche Chromosomen miteinbezogen werden und der somit tetraploid ist. Liegen die Chromosomen in einzelnen Gruppen getrennt, so entstehen teils hyperploide, teils hypoploide Kerne. Aus Mitosen mit non-congression oder non-disgression von 1—2 Chromosomen infolge Spindelstörung oder leichter Stickiness entstehen (Haupt-)Kerne, die entweder für 1—2 Chromosomen monosom oder trisom sind. Nach zahlreichen Erfahrungen an verschiedenen Pflanzen und Tieren, neuerdings auch am Menschen, können Kerne solcher Zusammensetzung erhaltungs- und teilungsfähig sein. Gleiches gilt für Kerne, die durch mechanische Zerreißung einzelner Chromosomen bei Stickiness, nach Chromosomenbruch und rearrangement (dizentrische Brücken) oder durch lokale chemische Strukturzerstörung (Bruch) Verluste an genetischem Material erlitten haben.

Nach allen bisherigen Erwartungen darf ferner angenommen werden, daß Stoffe, die die im Hauptteil beschriebenen Strukturmutationen auslösen, auch solche Strukturänderungen erzeugen, die in Mitosen nicht nachweisbar sind (z. B. Inversionen und meist auch symmetrische Translokationen), sowie *submikroskopische Genmutationen*. Die beiden erstgenannten stören zwar die weiteren Mitosen nicht, führen aber zu Schwierigkeiten bei der RT.

Diese Konsequenzen sind von Bedeutung für den Fall, daß die hier untersuchten KM bei menschlichen Zellen gleiche oder ähnliche Wirkung entfalten wie bei Pflanzenzellen.

3. Variabilität. In sämtlichen Versuchen war eine hohe quantitative Variabilität zu bemerken. Nach den diesbezüglichen Ergebnissen bei Joduron bin ich der Auffassung, daß Permeabilitätsunterschiede in den einzelnen Wurzeln erst in zweiter Linie für das verschiedene quantitative Verhalten nach Behandlung mit solchen Lösungen verantwortlich sind. Die hohe quantitative Variabilität wird wahrscheinlich in erster Linie durch den unterschiedlichen physiologischen Zustand der einzelnen Zellen bedingt. Nach JACKSON und BARBER (1958) können von den Zellen Phasen durchlaufen werden, in denen sie ganz verschiedene Empfindlichkeiten besitzen.

Für eine schädliche Veränderung des physiologischen Zustandes der Zelle als Primäreffekt sprechen Versuche, die mit KM im Warburg-Apparat durchgeführt wurden (HASSE, LINKER, DEMBOWSKI u. REES 1956). Dabei konnte eine Hem-

mung des oxydativen Zellstoffwechsels nachgewiesen werden. Bei diiodierten KM (Pyridonabkömmlingen) war diese Hemmung stärker als bei triiodierten. Ebenso zeigten letztere eine geringere Toxizität.

Weiter könnte man sich vorstellen, daß durch das Enzymsystem der Zelle ein Teil- oder Totalabbau solcher aktiven Moleküle zu weniger- oder unwirksamen Teilstücken erfolgt, dies aber in einem von Zelle zu Zelle verschiedenen Ausmaß. Bei Joduron sind jedoch auch die Teilstoffe wirksam.

4. Bestrahlungsversuche. Sämtliche untersuchten Stoffe bewirkten eine Verringerung der durch die Bestrahlung auslösbarer Strukturdefekte. Das bedeutet, daß sie als *Strahlenschutzstoffe wirken können*. Eine Ausnahme bildeten nur die Versuchsreihen mit 20r und 40r nach Joduronbehandlung. Nach 20r waren hier solche Defekte häufiger als bei den R-Kontrollen.

Es ist im Rahmen dieser Arbeit nicht möglich, eine Erklärung der Strahlenschutzwirkung dieser Stoffe zu geben. Es sollen nur einige Möglichkeiten ihrer Wirkungsweise angeführt werden, wie sie für verschiedene Stoffe bereits in der Literatur vorgeschlagen wurden.

Bekanntlich entstehen in röntgenbestrahlten wäßrigen Lösungen oxydierende Radikale $\text{OH}\cdot$, $\text{HO}_2\cdot$, sowie H_2O_2 (z. B. LANGENDORFF 1954, 1955; WEISS 1944), die dann die biologische Strahlenwirkung mit verursachen (Theorie der indirekten Strahlenwirkung). Durch die bekannten Strahlenschutzstoffe, die eine reduzierende —SH-Gruppe enthalten (z. B. Cystein, Thiole) können solche schädlichen Radikale abfangen und unter Oxydation dieser Gruppe vernichtet werden (FALLAB u. ERLÉNMEYER 1963; FLEMMING 1963, 1962; LANGENDORFF 1954; WOLFF 1954). Alle hier untersuchten Stoffe sind jedoch nichtreduzierende Verbindungen. Doch wird auch für solche Stoffe eine ähnliche Schutzwirkung angegeben (FLEMMING 1963, 1962), die durch andere funktionelle Gruppen (—COOH, NH_2 , OH) bedingt wird. Da Joduron (auch DJPE) eine Karboxylgruppe, Triopac bzw. Vesamin zusätzlich noch eine Aminogruppe besitzt, könnte von diesen Gruppen her die Protektorwirkung erklärt werden. Der starke Schutz durch Diäthanolamin wird vielleicht durch die Vereinigung zweier OH-Gruppen und einer Aminogruppe innerhalb eines Moleküls erreicht.

Die von FLEMMING (1962) für Triopac im Modellversuch angegebene Schutzwirkung bestätigte sich in diesen Versuchen auch bei Anwendung in vivo. Es ergab sich dabei eine Konzentrationsabhängigkeit in der Weise, daß bei Vorbehandlung mit einer konzentrierteren Lösung nach der Bestrahlung weniger Strukturmutationen auftraten, als mit einer schwächeren. Da Vesamin die gleiche chemische Konstitution wie Triopac hat, müßte also eine 0,021 mol. Lösung schwächer schützend wirken als die 0,057 molare. Das Umgekehrte war jedoch der Fall (Tabelle 7). Aus der Tabelle ist ersichtlich, daß in der höchsten Konzentration besonders nach 80r die Spindeleffekte zunehmen. Wahrscheinlich wird durch die relativ hohe Konzentration des KM der physiologische Zustand der Zellen so weit „geschwächt“, daß der nachfolgende Bestrahlungsschock von 80r (20r reichen nicht aus!) starke extranukleäre Störungen auslöst. Für eine Schutzwirkung gegen Struktureffekte könnte das Bedeuten, daß diejenige Konzentration am günstigsten ist, die zwar konzentriert genug ist, um wirksam zu absorbieren, durch die aber primär (d. h. vor Einwirkung der Strahlen) die Zelle am wenigsten geschädigt wird. Dies scheint für die 0,021 mol. Lösung zuzutreffen.

Geht man von der Theorie der direkten Strahlenwirkung aus, so darf man für Triopac wohl in der Hauptsache die starke Absorptionsfähigkeit für die Strahlen als Wirkungsmechanismus annehmen. Auf den durch die Carboxyl- und Amino- gruppe bedingten Schutz gegen die indirekte Strahlenwirkung wurde bereits hingewiesen. Daneben scheint auch noch das π -Elektronensystem der benzoid-ringförmigen Struktur dieser aromatischen Verbindung „eine völlig andersartige Unschädlichmachung der eingestrahnten Energie“ zu ermöglichen (FLEMMING 1963, 1962).

Durch die Bestrahlung der KM wird *Jod abgespalten*, das als Jodid in Lösung geht (SCHÜSSLER 1962). Dabei sind verdünnte Lösungen weniger stabil als hochkonzentrierte. Nun wäre eine Schadenhemmung vielleicht auch dadurch denkbar, daß die schädlichen Radikale $\text{OH}^\cdot$, $\text{HO}_2^\cdot$, bzw. H_2O_2 von den Jodionen abgefangen werden, indem sie diese zu Jod oxydieren und somit die Zahl dieser hochaktiven Bestrahlungsprodukte verringert wird.

Ähnlich wie bei Acetanilid ($\text{C}_6\text{H}_5\text{NHCOCH}_3$) (LUCK u. GORDY 1956) könnten sich auch bei Vesamin bzw. Triopac nach Bestrahlung $(\text{CH}_2)^\cdot$ Radikale bilden. Wenn man eine Anheftung solcher Radikale an Sauerstoff annimmt, könnte das zu einer Schutzwirkung durch Sauerstoffentzug führen (FALLAB u. ERLÉNMEYER 1963; LANGENDORFF 1954). (Die Reaktion des $(\text{CH}_2)^\cdot$ Radikals mit Sauerstoff ist jedoch noch nicht gesichert (LUCK u. GORDY 1956).

5. Übertragung der Versuchsergebnisse auf die Verhältnisse beim Menschen.

Die bisherigen Mitteilungen über schädliche Nebenwirkungen von KM (BURGER 1952, 1959; DÖRR, LUCIUS, PLAUL 1952; DORN 1957; MEYLER 1956; NEUGEBAUER 1958) enthalten keine Angaben über dysgenische Effekte.

Wie aus der vorliegenden Arbeit ersichtlich ist, können mit KM-Lösungen schon nach 4 Std Einwirkung Schäden am idioplasmatischen Material zumindest von Pflanzenzellen verursacht werden. Da eine Reihe der KM (Endografin, Joduron S bei der Hysterosalpingographie) mit Sicherheit direkt, andere vielleicht über den Weg der Blutbahn Keimdrüsen und Keimzellen beim Menschen erreichen können, ist die *Möglichkeit* der Auslösung von Erbdefekten gegeben.

Als Hauptangriffspunkte erwiesen sich Kernspindel und Chromosomen. Da diese Zellbestandteile chemisch und strukturell bei Pflanzen und Tieren im wesentlichen gleich sind, darf man aus dieser Sicht annehmen, daß die von KM auslös- baren *cytologischen Effekte* und somit auch deren *genetische Folgen beim Menschen im wesentlichen dieselben sein dürften*. Da KM-Moleküle sowohl hydrophile als auch lipophile Eigenschaften aufweisen müssen, können sie sicher gut durch plasmatische Membranen in die Zellen eindringen und dort zur Schädigung des Zellkerns führen.

Diese KM werden beim Menschen außerdem noch in Kombination mit Bestrahlung angewendet und wirken auf die Keimzellen unter Umständen auch in dem *physiologisch besonders empfindlichen Stadium der Reduktionsteilung* ein. Die *Konzentration* der eingeführten KM-Lösungen ist dabei rund 10–20mal *höher* als in unseren Versuchen. Sie dürften so wesentlich konzentrierter auf die Zelle treffen, da durch die Flüssigkeit in der Leibeshöhle die bei der Hysterosalpingographie applizierten 10–20 cm³ des rund 50%igen KM wohl kaum auf das 10–20fache verdünnt werden. Die Röntgendosen sind beim Menschen niedriger als in den Versuchen bei Allium. Sollten sich die Strahlenschutz Eigenschaften

von KM-Molekülen in weiteren detaillierten Versuchen bestätigen, so wäre zwar damit eine *Senkung der Bestrahlungseffekte* erreicht, *jedoch bliebe eine starke* (im Vergleich zu Allium möglicherweise 10—20fache) *chemische Gefährdung*.

Aus diesen Gründen sind weitere Untersuchungen dringend angezeigt. Sie müßten an anderen pflanzlichen und vor allem tierischen Versuchsonjekten sowie an menschlichen Zellkulturen durchgeführt werden.

Zusammenfassung

1. Aus Versuchen mit 4- bzw. 24stündiger Behandlung der Wurzelspitzen von Allium Cepa mit wäßrigen Lösungen der Röntgenkontrastmittel Joduron, Endograftin, Triopac und Vesamin sowie der Teilstoffe von Joduron (Dijodpyridonessigsäure und Diäthanolamin) wurden die cytologischen Beobachtungen mitgeteilt. Bei allen Stoffen (ausgenommen Endograftin) wurde die 4stündige chemische Behandlung außerdem mit Röntgenbestrahlung verschiedener Dosis kombiniert. Das gesamte Beobachtungsmaterial umfaßt rund 55 000 Mitosen.

2. Alle untersuchten Stoffe wirken in mehr oder weniger hohem Grade stathmokinotisch, d. h. eine normale Ausbildung oder Funktion der Spindel oder ihrer Teile wird verhindert oder weitgehend gestört.

3. Sämtliche Stoffe erzeugen außerdem Mitosestörungen durch Verklebung (stickiness) von Chromosomen, vorwiegend in den höheren, aber auch noch in den niedersten Konzentrationen und selbst nach 72stündiger Erholung. Dadurch können Fehlverteilungen entstehen und in Anaphasen Endstücke von Chromosomenarmen abgerissen werden.

4. Bei Joduron und Endograftin treten in stärkerem Maße Strukturmutationen auf, von denen dizentrische Brücken und Fragmente statistisch erfaßt wurden.

5. Die genetischen Folgen der cytologischen Effekte werden aufgezeigt.

6. Die in den Versuchen auftretende hohe quantitative Variabilität der Effekte hat ihre Ursache wohl eher in den verschiedenen physiologischen Reaktionslagen der einzelnen Zellen als in Permeations-Unterschieden.

7. Als Primäreffekt der cytogenetischen Wirkung der KM wird eine Stoffwechselstörung angenommen.

8. Die untersuchten Stoffe zeigen Strahlenschutzigenschaften. Einige Möglichkeiten über ihre diesbezügliche Wirkungsweise werden angedeutet.

9. Auf die Möglichkeit der Auslösung von Erbdefekten beim Menschen wird hingewiesen.

Literatur

- BAJER, A., and J. MOLÈ BAJER: Cinemicrographic studies on mitosis in endosperm. Chromosoma (Berl.) **7**, 558—607 (1956).
- BARBER, H. N., and H. G. CALLAN: The effects of cold and colchicine on mitosis in the newt. Proc. roy. Soc. (Lond.) **131**, 258 (1943).
- BARTHELMMESS, A.: Mutagene Arzneimittel. Arzneimittel-Forsch. **6**, 157 (1956).
- Chemisch induzierte multipolare Mitosen I. Protoplasma (Wien) **48**, 546 (1957).
- Gefährliche Dosis. Freiburg i. Br.: Herder Bücherei, Bd. 61, 1959.
- Möglichkeit und Gelegenheiten zur Schädigung des Erbgutes beim Menschen durch mutagene Stoffe; ein Vorschlag zur Erforschung. II. Int. Kongr. für Humangenetik Rom 1961. Excerpta med. (Amst.), Sect. 14 (1964).
- , u. J. EINLECHNER J.: Chemisch induzierte multipolare Mitosen II. Protoplasma (Wien) **51**, 325 (1959).

- BARTHELMMESS, A., u. A. ELKABARITY: Chemisch induzierte multipolare Mitosen III. Protoplasma (Wien) **54**, 455 (1962).
- BAUCH, R.: Irreversible Chromosomenschädigungen durch Trypaflavin. Planta (Berl.) **35**, 536 (1948).
- BRÜCKNER, H.: Kontrast-Füllung des Samenleiters nach Rekanalisation. Bruns' Beitr. klin. Chir. **195**, 46 (1957).
- BURGER, H.: Gibt es Schädigungen bei der Salpingographie mit wasserlöslichen, viskösen Kontrastmitteln? Geburtsh. u. Frauenheilk. **12**, H. 9, 1029 (1952).
- Kontrastmittelschäden. Dtsch. med. Wschr. **84**, 218 (1959).
- CARLSON, J. G.: On the mitotic movements of chromosomes. Science **124**, 203 (1956).
- COUR LA, L. F.: Breakage and reunion in Hyacinthus. (Symposium on chromosome breakage.) Heredity, Suppl. **6**, 218 (1953).
- DEUFEL, J.: Untersuchungen über den Einfluß von Chemikalien und Röntgenstrahlen auf die Mitose von *Vicia faba*. Chromosoma (Berl.) **4**, 239 (1951).
- DÖRR, H., E. LUCIUS u. R. PLAUL: Schädigung in den Tuben (Uterushörnern) des Kaninchens nach intratubarer Kontrastmittel-Injektion. Arch. Gynäk. **181**, H. 6, 692 (1952).
- DORN, H.: Röntgenkontrastmittel. Pharmazie **12**, 315 (1957) (Lit.).
- ERBSLÖH, J.: Über die Verwendung wasserlöslicher Kontrastmittel bei der gynäkologischen Röntgendiagnostik. Röntgen-Bl. **7**, H. 1 (1954).
- FALLAB, S., u. H. ERLÉNMEYER: Zum Wirkungsmechanismus des chemischen Strahlenschutzes. Experientia (Basel) **19**, 374 (1963).
- FLEMMING, K.: Über die Wirkungsweise der Strahlenschutzstoffe. Probleme und Ergebnisse aus Biophysik und Strahlenbiologie **3**, 39 (1962).
- Modellversuche zum chemischen Strahlenschutz. Strahlentherapie **120**, 456 (1963).
- FOCHEM, K.: Zur Kontrastmittel-Frage bei der Hysterosalpingographie. Fortschr. Röntgenstr. **87**, 342 (1957).
- GAULDEN, M. E., and J. CARLSON: Effects of colchicine on the grasshopper neuroblast. Exp. Cell. Res. **2**, 416 (1951).
- HASSE, H. M., G. LINKER, U. DEMBOWSKI u. P. REES: Klinische und experimentelle Untersuchungen mit neuen Kontrastmitteln in der Angiographie. Fortschr. Röntgenstr. **85**, 2 (1956).
- HELLINGER, E.: Hysterosalpingographie bei Frühgravidität. Med. Mitt. **19**, 5, 191 (1958).
- HOLLAENDER, A. (Hrsg.): Radiation biology, 4 Bde. New York 1954/1956.
- JACKSON, W. D., and H. N. BARBER: Pattern of chromosome breakage after irradiation and ageing. Heredity **12**, 2 (1958).
- KATO, Y.: Polyploid mitoses, estranuclear bodies and mitotic aberration in seedlings of *Lilium Maximowiczii*. Cytologia (Tokyo) **20**, 1 (1955).
- KRECK, K., u. O. HOFFMANN-OSTENHOF: Chemisch induzierter Chromatinaustritt aus pflanzlichen Zellkernen. Exp. Cell Res. **7**, 111 (1954).
- Stoffwechselprodukte von Allium-Arten als Mitosegifte. Cytologia (Tokyo) **21**, 208 (1956).
- LANGECKER, H., A. HARWART u. K. JUNKMANN: 2,4,6-Trijod-3-acetaminobenzoesäure-Abkömmlinge als Kontrastmittel. Naunyn-Schmiedeberg's Arch. exp. Path. Pharmac. **220**, 195 (1953).
- LANGENDORFF, H.: Die Strahlenempfindlichkeit. Röntgen-Bl. **8**, 215 (1954).
- Reaktionsvorgänge im biologischen Objekt nach Einwirkung energiereicher Strahlen. Arzneimittel-Forsch. **5**, 265 (1955).
- LETTRE, H.: Die Dissoziabilität einzelner Mitoseschritte. Forsch. Fortschr. dtsch. Wiss. **35**, 39 (1956).
- Dissoziabilität einzelner Mitoseschritte und ihre Bedeutung für das Tumorproblem. Verh. Dtsch. Ges. Path. 40. Tagg 1957, S. 355.
- u. R. LETTRE: Persistenz der Chromosomenspindelfaser, eine Arbeitshypothese zur Deutung der karyokinetischen Vorgänge. Naturwissenschaften **44**, 406 (1957).
- LEVAN, A.: The effect of colchicine on root mitoses in allium. Hereditas (Lund) **24**, 471 (1938).
- The macroscopic colchicine effect a hormonal action? Hereditas (Lund) **28**, 244 (1942).
- , and TH. LOTFY: Naphtalene acetic acid in the Allium test. Hereditas (Lund) **35**, 337 (1949).

- LUCK, F. C., and W. GORDY: Effects of x-irradiation upon some organic substances in the solid state: simple alcohols, amines, amides and mercaptans. *J. Amer. chem. Soc. Easton* **78**, 3240 (1956).
- MANARTE, M., u. FL. RESENDE: Pyknose, Chromatinverarmung und Fragmentation von Ruhekernen durch 2,3,5-Trijodbenzoesäure, in *Allium cepa*. *Bol. Soc. port. cienc. nat.* **4**, 138 (1952).
- MARQUARDT, H.: Die Röntgenpathologie der Mitose. *Z. Bot.* **31**, 572 (1937).
- Die Röntgenpathologie der Mitose. *Z. Bot.* **32**, 401 (1938).
- Die Schädigung des Zellkerns durch Röntgenbestrahlung. *Experientia (Basel)* **5**, 31 (1949).
- Neuere Auffassungen über einige Probleme der Pathologie der Kernteilung. *Naturwissenschaften* **37**, 416 (1950).
- MEYER, M.: Trypaflavinwirkung auf Amphibienmitosen. *Z. Zellforsch.* **47** (1958).
- MEYLER, L.: Schädliche Nebenwirkungen von Arzneimitteln. Wien: Springer 1956.
- MUTH, H.: Zur Resistenz des befruchteten Eies trotz intrauteriner Eingriffe. *Münch. med. Wschr.* **104**, 46, 2213 (1962).
- NEUGEBAUER, W.: Kontrastmittel-Schädigungen. *Dtsch. Z. ges. gerichtl. Med.* **47** (1958).
- NYBOM, N., and B. KNUTSSON: Investigations on c-mitosis in *Allium cepa*. *Hereditas (Lund)* **33**, 220 (1947).
- ÖSTERGREN, G.: Colchicine mitosis, chromosome-contraction, narcose and proteinchain-folding. *Hereditas (Lund)* **30**, 429 (1944).
- Cytological standards for the quantitative estimation of spindle disturbances. *Hereditas (Lund)* **36**, 371 (1950).
- PETERS, J. J.: Cytological effects of sulfanilamide on *Allium cepa*. *Bot. Gaz.* **107**, 390 (1946).
- PETERS, K.: Über das Auftreten und Verhalten von Nebenkernen in den Wurzelspitzen von *Vicia faba equina* nach Einwirkung von Radiumstrahlen. *Z. Zellforsch.* **39**, 414 (1954).
- PONTIFIX, M. D. GR.: A new medium for hysterosalpingography. *Int. J. Fertil.* **4**, 76 (1959).
- RESENDE, F., H. LETTRÉ u. R. LETTRÉ: Zur Persistenz der Chromosomenspindelfaser. *Naturwissenschaften* **46**, 117 (1959).
- SCHÜSSLER, R.: Der Jodidgehalt jodierter wasserlöslicher Röntgenkontrastmittel und seine Veränderung durch Röntgenstrahlen. *Fortschr. Röntgenstr.* **97**, 649 (1962).
- SIEBS, W.: Mitoseablaufstörungen I) Polchromosomen und Dreigruppen-Metaphasen. *Z. Zellforsch.* **51**, 497 (1960a).
- Mitoseablaufstörungen II (Sternkonfiguration arretierter Metaphasen). *Z. Zellforsch.* **51**, 535 (1960b).
- WEISS, J.: Radiochemistry of aqueous solutions. *Nature (Lond.)* **73**, 748 (1944).
- WOLFF, SH.: Some aspects of the chemical protection against radiation damage to *Vicia faba* chromosomes. *Genetics* **39**, 356 (1954).

MANFRED BAUCHINGER, Gesellschaft für Strahlenforschung m.b.H.
Neuherberg bei München, Ingolstädter Landstr. 1
Institut für Biologie

LEBENS LAUF

Am 16. 10. 1937 wurde ich Manfred Josef Bauchinger als Sohn des Polizeiobermeisters Josef Bauchinger und seiner Ehefrau Therese, geb. Ertl, in München geboren. Bedingt durch die dienstliche Versetzung meines Vaters nach Brünn (CSR), besuchte ich bis zu unserer Flucht im April 1945 die dortige Volksschule anschließend in München die Klenze- und Waisenhaus-Volksschule. 1948 trat ich in die Rupprecht-Oberrealschule München ein, an der ich im Juli 1958 die Reifeprüfung ablegte. Nach einer kurzfristigen Tätigkeit in einer Münchener Brauerei immatrikulierte ich mich im Sommersemester 1959 an der Universität München in der naturwissenschaftlichen Fakultät mit den Fächern Biologie, Chemie und Geographie. Im Dezember 1961 begann ich mit meiner Doktorarbeit im Hauptfach Botanik, deren experimentellen Teil ich im August 1963 beendete.

